



ប្រិយសួរ

โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

ภาควิชา

เรื่อง การติดเชื้อไวรัสซิกาอีกเสบและสมองอักเสบในแพะที่เลี้ยงในภาคกลางและภาคตะวันตก
ของประเทศไทย

Caprine Arthritis Encephalitis Virus Infection in Goats Raised in The Central and Western Part of Thailand

นามผู้วิจัย นางสาวนิจร รัตนภพ

๒ ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ธีระ รักความสุข, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์ทวีศักดิ์ ส่องเสริม, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์นรินทร์ อุประกรินทร์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.

คณะบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

សិបសិរី មហាវិញយាស័យរោងព័ន្ធតាំស័ន្ទ

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การติดเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะที่เลี้ยงในภาคกลางและภาคตะวันตก
ของประเทศไทย

Caprine Arthritis Encephalitis Virus Infection in Goats Raised in The Central and Western Part
of Thailand

โดย

นางสาวนิอร รัตนภพ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์)

พ.ศ. 2553

นิตย รัตนภพ 2553: การติดเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะที่เลี้ยงในภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงของประเทศไทย ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (คลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์) สาขาคลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์ โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ธีระ รักความสุข, Ph.D. 93 หน้า

ไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะ (Caprine Arthritis Encephalitis Virus, CAEV) เป็นเชื้อก่อโรคที่มีความสำคัญในแพะ และยังมีการศึกษาไม่มากนักในประเทศไทย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจความชุกทางซีรัมของการติดเชื้อในแพะที่เลี้ยงในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงของประเทศไทย รวมทั้งเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะ เพื่อใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อต่อไป โดยดำเนินการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อทดสอบทางซีรัมจากแพะจำนวนรวมทั้งสิ้น 1,333 ตัว แบ่งเป็นแพะนมจำนวน 419 ตัว จาก 50 ฟาร์ม และแพะเนื้อจำนวน 914 ตัว จาก 100 ฟาร์ม และเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจค่าไลหิตวิทยาจากแพะทั้งสิ้น 573 ตัว แบ่งเป็นแพะนมจำนวน 174 ตัว และแพะเนื้อจำนวน 399 ตัว ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์จากเนื้อเยื่อบริเวณเยื่อหุ้มข้อของแพะเพศผู้ อายุ 5 เดือน และตรวจยืนยันว่าเป็นเซลล์ชนิดไฟโบรบลาสต์โดยตรวจหา vimentin ด้วยวิธี immunocytochemistry

ผลการศึกษาพบว่ามีความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อระดับสูง 45.33% และระดับรายตัว 12.23% โดยความชุกระดับสูงและระดับรายตัวในแพะนมเป็น 54% และ 21.24% ส่วนในแพะเนื้อเป็น 41% และ 8.10% ตามลำดับ โดยโอกาสการให้ผลบวกต่อการทดสอบในแพะนมเป็น 3.01 เท่าของแพะเนื้อ ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าในแพะนมเพศเมียมีโอกาสให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 4.42 เท่าของเพศผู้ ($P < 0.05$) ส่วนในแพะเนื้อพ่อแม่พันธุ์มีโอกาสให้ผลบวกเป็น 2.60 เท่าของแพะรุ่นและลูกแพะ ($P < 0.05$) สำหรับค่าไลหิตวิทยา ระหว่างแพะที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อการทดสอบแตกต่างกันเพียงค่าความเข้มข้นของเซลล์และค่าความเข้มข้นของซีโมโกลบิน ซึ่งความแตกต่างนี้ก็ไม่ได้จำเพาะต่อการติดเชื้อ ดังนั้นการตรวจทางไลหิตวิทยาจึงไม่สามารถช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อ CAEV ได้ การเพาะเลี้ยงเซลล์จากเนื้อเยื่อบริเวณข้อของแพะเพศผู้ อายุประมาณ 5 เดือน ได้เซลล์ซึ่งเจริญเกาะติดกับพื้นผิวภาชนะ ลักษณะเป็นรูปกระสวยและสามารถถ่ายเลี้ยงได้มากกว่า 9 ครั้ง นอกจากนี้เมื่อนำเซลล์ที่ผ่านการแช่แข็งมาอุ่นละลายยังสามารถเพาะเลี้ยงต่อไปได้ เมื่อทำการตรวจพิสูจน์ชนิดของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้พบว่าเป็นชนิด fibroblast เนื่องจากพบว่ามี vimentin จากการตรวจด้วยวิธี immunocytochemistry

จากระดับความชุกทางซีรัมของการติดเชื้อที่พบจากการศึกษานี้ควรจะมีการให้ความรู้แก่เกษตรกรเพื่อให้เห็นถึงความสำคัญของเชื้อ และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรที่จะกำหนดมาตรการในการควบคุมป้องกันการติดเชื้อ เพื่อไม่ให้เกิดความสูญเสียแก่เกษตรกร ส่วนเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะที่เพาะเลี้ยงได้จะต้องทำการทดสอบการยอมรับเชื้อเพื่อใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ CAEV ต่อไป

Niorn Ratanapob 2010: Caprine Arthritis Encephalitis Virus Infection in Goats Raised in The Central and Western Part of Thailand. Master of Science (Veterinary Clinical Studies), Major Field: Veterinary Clinical Studies, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Associate Professor Theera Rukkwamsuk, Ph.D. 93 pages.

Caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) is an important pathogen in goats. So far, there have been limited studies on CAEV in Thailand. The objectives of this study were to survey the seroprevalence of CAEV infection in goats raised in the central and western part of Thailand, and to culture the synovial cells for further study of CAEV properties. Blood samples were randomly collected from 1,333 goats, including 419 dairy goats and 914 meat goats from 50 and 100 dairy and meat goat farms, respectively. Serum samples were used for serological test. Hematological study was done on samples from 174 dairy goats and 399 meat goats. Synovial tissue collected from a five-month old, male goat was cultured and the fibroblastic cells were confirmed by detecting vimentin using immunocytochemistry.

The result showed that the seroprevalence of CAEV infection was 45.33% at the herd level and was 12.23% at the individual level. In dairy goat, herd prevalence and individual prevalence were 54% and 21.24% and in meat goat were 41% and 8.10%, respectively. Dairy goat had 3.01 times more likely to become positive than meat goat ($P < 0.05$). In dairy goats, female goat had 4.42 times more likely to become positive than male goat ($P < 0.05$). In meat goats, buck and doe had 2.60 times more likely to become positive than kid and yearling ($P < 0.05$). Hematological results showed that only hematocrit and hemoglobin concentration were different between seropositive and seronegative goats, however the differences were not specific for CAEV infection. Therefore, hematological test was not a useful tool for diagnosis of CAEV infection. Synovial cells were cultured, and the cultured cells were spindle-shaped and were able to be attached to the bottom of the flasks. These cultured cells could be subcultured more than 9 passages. Cultured cells thawed from freezing could normally grow. The synovial cells were proved to be fibroblasts because of vimentin can be detected by immunocytochemistry technic.

According to seroprevalence finding in this study, farmers should be notified in order to realize the importance of CAEV. Proper prevention and control measures should be taken to avoid an economic loss to farmers. Viral susceptibility of goat synovial cell must be tested for further use in the future CAEV study.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบคุณ รศ.น.สพ.ดร.ธีระ รักความสุข ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.น.สพ.ดร.ทวีศักดิ์ ส่งเสริม กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำและให้คำปรึกษาที่ดีเสมอมา ทั้งด้านการเรียนและการศึกษาวิจัย รวมทั้งการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ และขอกราบขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่กรุณาตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ ผศ.น.สพ.ดร.นรินทร์ อุประกรินทร์ อาจารย์ ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ คุณศิริลักษณ์ จาละ นักวิทยาศาสตร์ หน่วยงานชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และคุณวิไลรัตน์ จำสึงห์ นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในการตรวจทางห้องปฏิบัติการ รวมทั้งขอขอบคุณแพทย์หญิงศิริวรรณ ตั้งจิตกมล คุณสุจิตรา คัมพ์วิช และคุณพรพิมล คงจันทร์ ภาควิชาพยาธิวิทยาภายใน วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและ วชิรพยาบาล เป็นอย่างสูงที่กรุณาตรวจพิสูจน์เซลล์ชนิดไฟโบร بلاส

ขอขอบคุณเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างและให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย ขอขอบคุณนายสัตวแพทย์ สัตวแพทย์และเจ้าหน้าที่ของกรมปศุสัตว์ และนายสัตวแพทย์ของโรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน และหนองโพ รวมถึงนิสิตชั้นปีที่ 6 ปีการศึกษา 2550-2551 ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติผ่านสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุดท้าย ขอกราบขอบคุณบิดา มารดา และพี่สาว ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในด้านการเรียนแก่ผู้วิจัยเสมอมา

นীর รัตนภพ

มีนาคม 2553

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(3)
สารบัญภาพ	(5)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(6)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	26
อุปกรณ์	26
วิธีการ	29
ผลและวิจารณ์	33
ผล	33
วิจารณ์	50
สรุปและข้อเสนอแนะ	58
สรุป	58
ข้อเสนอแนะ	59
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	61
ภาคผนวก	78
ภาคผนวก ก ข้อมูลจำนวนแพะและเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะในพื้นที่จังหวัด ที่ทำการศึกษา	79
ภาคผนวก ข จำนวนฟาร์มและจำนวนแพะที่ใช้ในการศึกษาจำแนกตามจังหวัด	81
ภาคผนวก ค ขั้นตอนการทดสอบระดับภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสข้ออักเสบ และสมองอักเสบในแพะด้วยชุดทดสอบ ELISA	83
ภาคผนวก ง สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์	86
ภาคผนวก จ ขั้นตอนการถ่ายเลี้ยงเซลล์	88

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

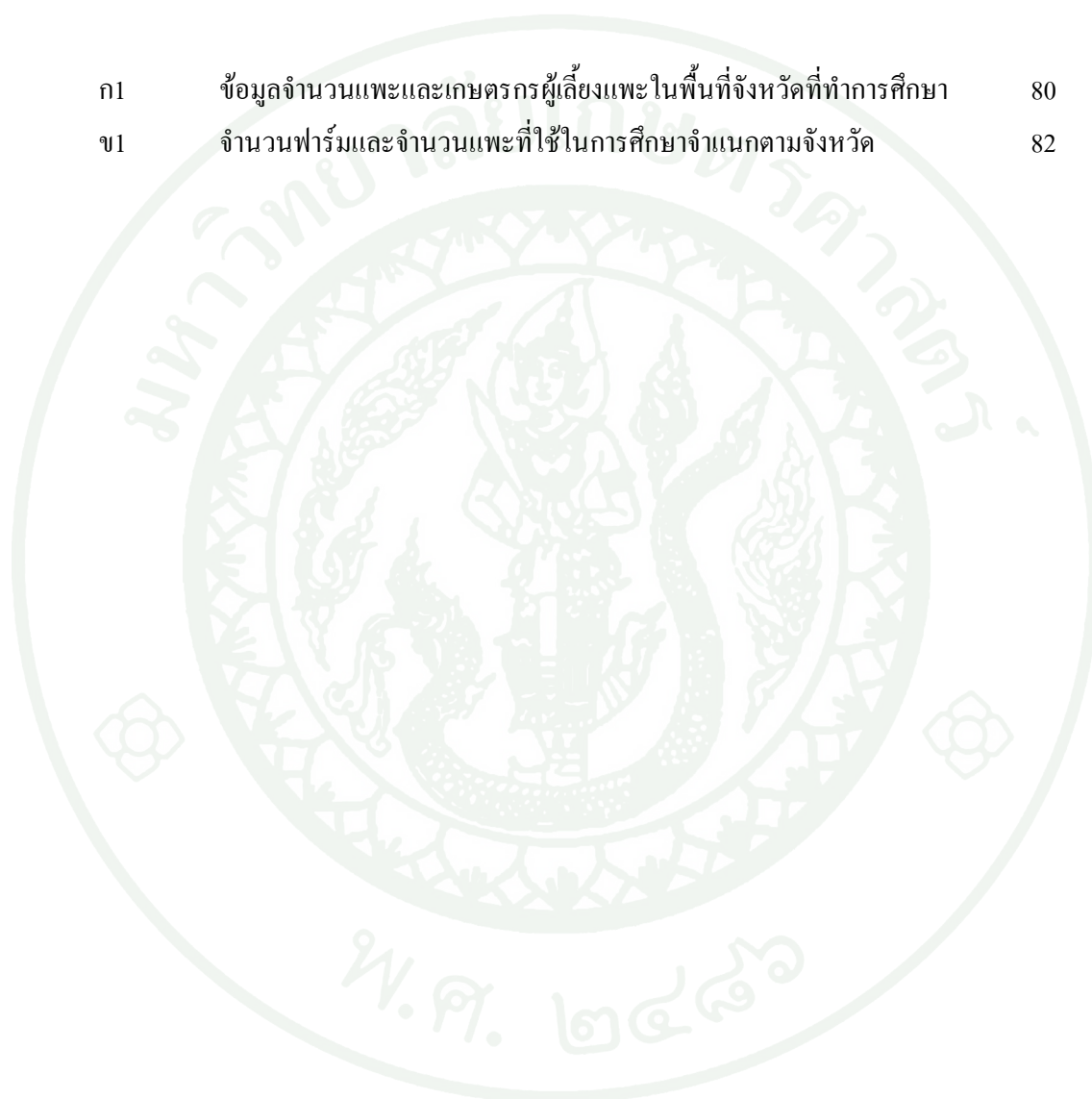
ภาคผนวก ฉ ขั้นตอนการตรวจพิสูจน์เซลล์ชนิด fibroblast ด้วยวิธี	
immunocytochemistry เพื่อหา vimentin	90
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	93

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	จำนวนแพะที่ใช้ในการศึกษาจำแนกตามจังหวัด ชนิดการให้ผลผลิต เพศและอายุ	27
2	ผลการทดสอบการติดเชื้อ CAEV ทางซีรัมด้วยชุดทดสอบ ELISA รายตัว	34
3	ผลการทดสอบการติดเชื้อ CAEV ทางซีรัมด้วยชุดทดสอบ ELISA รายฟาร์ม	34
4	ผลการทดสอบการติดเชื้อ CAEV ทางซีรัมรายฟาร์มและรายตัวจำแนกตามจังหวัด	35
5	ปัจจัยที่มีผลต่อผลการทดสอบทางซีรัม	36
6	ปัจจัยด้านอายุที่มีผลต่อผลการทดสอบทางซีรัมในแพะแต่ละชนิด	37
7	ปัจจัยด้านเพศที่มีผลต่อผลการทดสอบทางซีรัมในแพะแต่ละชนิด	37
8	ค่าทางโลหิตวิทยาของแพะที่ใช้ในการศึกษา	38
9	ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าโลหิตวิทยาในแพะที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อการทดสอบทางซีรัม	39
10	ค่าโลหิตวิทยาในแพะนมที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัมแยกตามเพศ	40
11	ค่าทางโลหิตวิทยาในแพะเนื้อที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัมแยกตามเพศ	42
12	ค่าทางโลหิตวิทยาในแพะนมที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัมแยกตามช่วงอายุ	44
13	ค่าทางโลหิตวิทยาในแพะเนื้อที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัมแยกตามช่วงอายุ	46

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ก1	ข้อมูลจำนวนแพะและเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะในพื้นที่จังหวัดที่ทำการศึกษา	80
ข1	จำนวนฟาร์มและจำนวนแพะที่ใช้ในการศึกษาจำแนกตามจังหวัด	82



สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของเชื้อในกลุ่ม Lentivirus	5
2	พยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ CAEV	10
3	สัดส่วนฟาร์มที่มีความชุกในแต่ละช่วง	35
4	เซลล์เชื้อหุ้มข้อของแพะ กำลังขยาย 400 เท่า	48
5	ผลการทดสอบหา vimentin ด้วยวิธี immunocytochemistry (A) เนื้อเยื่อจากเนื้องอกที่มี vimentin (ตัวควบคุมบวก) (กำลังขยาย 100 เท่า) (B) เซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงทำการทดสอบ โดยไม่ใส่ anti-vimentin (ตัวควบคุมลบ) (กำลังขยาย 200 เท่า) (C) เซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบ (กำลังขยาย 200 เท่า)	49

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

AGID	=	Agar Gel Immunodiffusion
CAEV	=	Caprine Arthritis Encephalitis Virus
CPE	=	Cytopathic Effect
DMSO	=	Dimethyl Sulfoxide
DNA	=	Deoxyribonucleic Acid
ELISA	=	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FCS	=	Fetal calves serum
Hb	=	Hemoglobin
Hct	=	Hematocrit
MCH	=	Mean Corpuscular Hemoglobin
MCHC	=	Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
MCV	=	Mean Corpuscular Volume
MEM	=	Minimum Essential Medium
MVV	=	Maedi-Visna Virus
NAGase	=	N-acetyl- β -D-glucosaminidase
PBS	=	Phosphate Buffered Saline
PCR	=	Polymerase Chain Reaction
RBC	=	Red Blood Cell
RDW	=	Red Cell Distribution Width
RIA	=	Radioimmunoassay
RIPA	=	Radio-Immunoprecipitation Assay
RNA	=	Ribonucleic Acid
WB	=	Western Blotting
WBC	=	White Blood Cell

การติดเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะที่เลี้ยงในภาคกลางและภาคตะวันตก ของประเทศไทย

Caprine Arthritis Encephalitis Virus Infection in Goats Raised in The Central and Western Part of Thailand

คำนำ

เชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะ (Caprine arthritis encephalitis virus; CAEV) ถือเป็นเชื้อไวรัสชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญสำหรับการเลี้ยงแพะ แพะที่ติดเชื้อนี้จะไม่สามารถกำจัดเชื้อออกจากร่างกายได้ จึงติดเชื้อและเป็นพาหะของโรคไปตลอดชีวิต โดยแพะที่ติดเชื้อนี้อาจมีอาการแตกต่างกันไป ได้แก่ ข้ออักเสบ อาการทางระบบประสาท อาการในระบบทางเดินหายใจ และเต้านมอักเสบ อย่างไรก็ตามแพะที่ติดเชื้อส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการของโรคให้เห็น แต่จะขับนม ให้ผลผลิตที่ลดลงและเป็นตัวแพร่เชื้อไปสู่แพะตัวอื่นได้ อีกทั้งในระยะปีบการค้าสัตว์และซากสัตว์ระหว่างประเทศยังห้ามเคลื่อนย้ายแพะที่ติดเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบ จึงถือว่าโรคนี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ การติดต่อของเชื้อส่วนใหญ่ผ่านทางรกกินนม น้ำเหลืองหรือนมที่มาจากแม่แพะที่ติดเชื้อ ซึ่งเชื้อจะอยู่ในเม็ดเลือดขาวในนม น้ำเหลืองและนม นอกจากนี้แพะยังสามารถได้รับเชื้อนี้จากการสัมผัสเลือดหรือสิ่งคัดหลั่งที่มีเชื้ออยู่ทั้งโดยตรงและทางอ้อม รวมทั้งมีรายงานการติดต่อจากแม่สู่ลูกภายในมดลูก การวินิจฉัยการติดเชื้อมีหลายวิธี ซึ่งมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป แต่ยังไม่มียุติวิธีใดที่เป็นวิธีการมาตรฐาน ในปัจจุบันนิยมใช้การทดสอบทางซีรัมวิทยา โดยเฉพาะ Agar Gel Immunodiffusion (AGID) และ Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ในการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ

สำหรับในประเทศไทยมีรายงานพบการติดเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะครั้งแรกในปี 2528 ที่จังหวัดราชบุรี และมีการศึกษาที่รายงานความชุกของการติดเชื้อทางซีรัมวิทยาอยู่เพียง 2 ฉบับ โดยมีความชุกอยู่ระหว่าง 0% ถึง 21% ซึ่งในทั้ง 2 การศึกษามีจำนวนประชากรที่ใช้ในการศึกษาน้อย จากการมีข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะในประเทศไทย โดยเฉพาะข้อมูลเกี่ยวกับการตรวจหาตัวเชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรค จึงทำให้ผู้เกี่ยวข้องยังขาดความเข้าใจถึงความสำคัญของโรค และไม่มีการกำหนดมาตรการในการควบคุมและป้องกันการติดเชื้ออย่างเหมาะสม

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาความชุกทางซีรัมของการติดเชื้อไวรัสซ้ออักเสบและ
 สมองอักเสบในแพะในกลุ่มประชากรที่มากขึ้นกว่าการศึกษาในอดีต รวมถึงการเพาะเลี้ยงเซลล์จาก
 เนื้อเยื่อของแพะ สำหรับใช้ในการแยกเชื้อไวรัสซ้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะ เพื่อใช้ในการ
 การศึกษาคุณสมบัติของเชื้อต่อไป โดยข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการเลี้ยงแพะ ซึ่งเป็น
 สัตว์เศรษฐกิจที่ได้รับการส่งเสริมจากหลายหน่วยงาน ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนด
 มาตรการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อไวรัสซ้ออักเสบและสมองอักเสบ เพื่อลดความสูญเสียทาง
 เศรษฐกิจที่เกิดจากการติดเชื้อ อีกทั้งจะช่วยให้การพัฒนาการเลี้ยงแพะดำเนินไปได้อย่างมี
 ประสิทธิภาพ

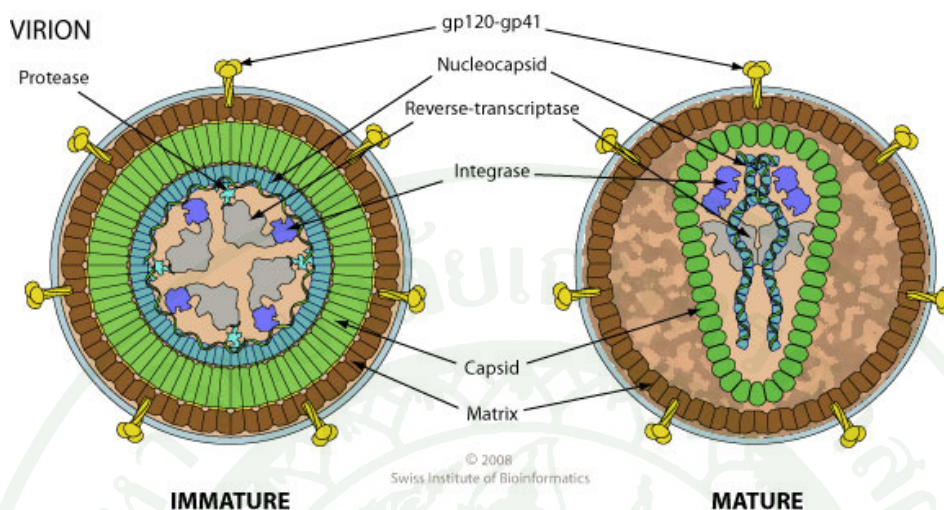
วัตถุประสงค์

1. สำรวจความชุกทางชีวิตรับของการติดเชื้อไวรัสซ้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะที่เลี้ยงในเขตภาคกลางและภาคตะวันตกของประเทศไทย
2. เปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาระหว่างแพะที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อการทดสอบการติดเชื้อไวรัสซ้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะทางชีวิตรับ
3. เพาะเลี้ยงเซลล์จากเยื่อหุ้มข้อของแพะ สำหรับใช้ในการแยกเชื้อไวรัสซ้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะ เพื่อการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

การตรวจเอกสาร

เชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะ (Caprine Arthritis Encephalitis Virus, CAEV)

เชื้อ CAEV เป็น RNA (Ribonucleic Acid) virus สายเดี่ยว (single-stranded) รูปลูกบาศก์ (icosahedral) มีเปลือกหุ้ม (enveloped) อยู่ในกลุ่ม lentivirus ในสกุล retroviridae เชื้อสกุลนี้จะมีเอนไซม์ reverse transcriptase ช่วยในการสร้าง DNA (Deoxyribonucleic Acid) provirus จาก RNA ของเชื้อ โดยมีเซลล์ของโฮสต์ช่วย (Smith and Sherman, 1994) เชื้อจะต้องการเซลล์ที่มีการแบ่งตัวเพื่อช่วยในการสังเคราะห์และการรวมตัวของ provirus เข้ากับเซลล์ รวมถึงต้องการการกระตุ้นและการ differentiate ของเซลล์เพื่อการเพิ่มจำนวน (Narayan and Cork, 1985) โดยเชื้อจะอยู่ในระยะแฝงในเซลล์ต้นกำเนิด (precursor cell) และวงจรชีวิตจะสมบูรณ์ในเซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้ว (Narayan and Clemants, 1989) เชื้อในกลุ่ม lentivirus ตัวอื่นๆ ได้แก่ Maedi-Visna Virus (MVV) และ progressive pneumonia virus ที่ก่อโรคในแกะ equine infectious anemia virus ที่ก่อโรคในม้า และ human immunodeficiency virus ที่ก่อโรคในคน (Knowles *et al.*, 1992; Smith and Sherman, 1994) โดย CAEV จะมีความใกล้เคียงเชื้อที่ก่อโรคในแกะมากที่สุดและสามารถเกิดปฏิกิริยาทางซีรั่มข้ามระหว่างกันได้ (serologically cross-reactive) (Ellis *et al.*, 1983a; Gazit *et al.*, 1983;) โดยทั่วไปเชื้อในกลุ่ม lentivirus จะมีความจำเพาะต่อชนิดสัตว์ค่อนข้างสูง (Mselli-Lakhal *et al.*, 2000) แต่พบว่าแกะสามารถติดเชื้อ CAEV จากแพะได้ทั้งจากการทดลองและตามธรรมชาติ ในขณะที่เดียวกันแพะก็สามารถติดเชื้อ MVV จากแกะได้ อย่างไรก็ตามการติดต่อของเชื้อทั้ง 2 ชนิดข้ามระหว่างแพะและแกะตามธรรมชาติเกิดขึ้นได้ยาก (Banks *et al.*, 1983; Grewal *et al.*, 1986; Shah *et al.*, 2004; Gjerset *et al.*, 2007) Guiguen *et al.* (2000) พบว่าแกะที่ติดเชื้อ CAEV จะไม่แสดงอาการผิดปกติให้เห็น โดยจะเริ่มตรวจพบแอนติบอดีได้ 4-5 สัปดาห์หลังจากได้รับเชื้อ และเมื่อนำ macrophage ของแกะที่ติดเชื้อมาเพาะเลี้ยงจะพบการเชื่อมติดกันของเซลล์ (syncytial formation) โคสามารถติดเชื้อ CAEV ได้ผ่านระบบทางเดินหายใจและกระแสเลือด โดยสามารถตรวจพบเชื้อจาก macrophage ของโคที่ติดเชื้อและตรวจพบแอนติบอดีได้หลังการติดเชื้อ 3-4 สัปดาห์ และการติดเชื้อจะหายไปหลังจากติดเชื้อเป็นเวลา 4 เดือน อย่างไรก็ตาม โคที่ติดเชื้อจะไม่แสดงอาการผิดปกติ รวมทั้งไม่พบรอยโรคใดๆ ในอวัยวะเป้าหมายของเชื้อ ได้แก่ เนื้อเยื่อบริเวณข้อ ระบบประสาทส่วนกลาง ปอด และเต้านม ดังเช่นที่พบในแพะที่ติดเชื้อ (Morin *et al.*, 2003) นอกจากนี้สัตว์เคี้ยวเอื้องป่าขนาดเล็กก็สามารถติดเชื้อ CAEV และอาจเป็นพาหะนำโรคมานสู่สัตว์เลี้ยงได้ (Guiguen *et al.*, 2000)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของเชื้อในกลุ่ม Lentivirus

ที่มา: Swiss Institute of Bioinformatics (2010)

เชื้อในกลุ่ม lentivirus ก่อให้เกิดปัญหาการเสื่อมเรื้อรังของอวัยวะในหลายระบบของร่างกาย (Knowles *et al.*, 1992) การติดเชื้อ CAEV เป็นการติดเชื้อตลอดชีวิต แพะที่ติดเชื้อจึงเป็นพาหะของโรคไปตลอดชีวิต (Adams *et al.*, 1980a; Knowles *et al.*, 1992) เชื้อชนิดนี้ทนทานต่อรังสีอัลตราไวโอเลต แต่ความสามารถในการติดเชื้อจะลดลงเมื่อสัมผัสกับ lipid solvent, periodate, phenol, trypsin, ribonuclease, formaldehyde, quaternary ammonium compound, hypochlorite, สภาวะที่เป็นกรด (pH<4.2) และอุณหภูมิที่สูงกว่า 56 องศาเซลเซียส (Narayan and Cork, 1990; Donovan and Fuller, 2004) สามารถเพาะเลี้ยง CAEV ภายนอกร่างกายสัตว์ได้ โดยเซลล์ที่ติดเชื้อจะแสดง cytopathic effect (CPE) ในลักษณะที่มีการเชื่อมติดกันของเซลล์ (syncytial formation) CAEV มีหลายสายพันธุ์ แต่ทุกสายพันธุ์ก่อให้เกิดอาการในลักษณะเดียวกันแต่ความรุนแรงแตกต่างกัน (Smith and Sherman, 1994)

ระบาดวิทยา

พบการก่อโรคจากเชื้อ CAEV ครั้งแรกในประเทศสหรัฐอเมริกา โดยแพะที่ติดเชื้อแสดงอาการทางระบบประสาท และได้เรียกโรคที่พบในตอนนั้นว่า viral leukoencephalomyelitis (Cork *et al.*, 1974) ต่อมา Crawford and Narayan (1980) สามารถแยกเชื้อ retrovirus ได้จากแพะที่มีอาการข้ออักเสบ และพบว่าเชื้อที่ได้มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติทางระบบประสาท จึงตั้งชื่อให้เชื้อนี้ใหม่ว่า caprine arthritis encephalitis virus การติดเชื้อ CAEV สามารถพบได้ทั่วโลก โดยจากการศึกษาความชุกของการติดเชื้อหลายการศึกษาพบว่า ประเทศที่มีการเลี้ยงแพะแบบอุตสาหกรรมมาเป็นเวลานานจะมีความชุกของโรคสูง เช่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และนอร์เวย์ ส่วนประเทศที่เพิ่งเริ่มมีการเลี้ยงแพะจะมีความชุกต่ำกว่า เช่น เคนยา จอร์แดน สเปน และเม็กซิโก และในบางประเทศก็ไม่พบการติดเชื้อเลย เช่น ไอร์แลนด์ และไนจีเรีย (Crawford and Adams, 1981; Adams *et al.*, 1983b; Adair, 1986; Grewal *et al.*, 1986; East *et al.*, 1987; Cutlip *et al.*, 1992; Rowe *et al.*, 1992a; Greenwood *et al.*, 1995; Nord and Adnøy, 1997; Contreras *et al.*, 1998; Nord *et al.*, 1998b; Baba *et al.*, 2000; Torres-Acosta *et al.*, 2003; Al-Qudah *et al.*, 2006) สำหรับประเทศที่มีการนำเข้าแพะจากต่างประเทศจะพบความชุกของการติดเชื้อสูงในกลุ่มแพะที่นำเข้าจากประเทศที่มีการเลี้ยงแพะเป็นอุตสาหกรรม รองลงมาคือกลุ่มแพะที่สัมผัสกับแพะที่นำเข้า และแพะที่ไม่ได้สัมผัสกับแพะที่นำเข้าตามลำดับ (Adams *et al.*, 1983b; Grant *et al.*, 1988)

ความชุกของการติดเชื้อในแพะแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน โดยแพะที่เลี้ยงเพื่อผลิตนมมีโอกาสติดเชื้อสูงเนื่องจากมีการจัดการที่มีโอกาสทำให้เกิดการติดต่อเชื้อได้มาก เช่น การนํานม น้ำเล็องหรือนมจากแม่แพะหลายตัวมารวมกันให้ลูกแพะกิน ในขณะที่แพะที่เลี้ยงเพื่อผลิตขนมีความชุกของการติดเชื้อต่ำกว่าเนื่องจากการจัดการในแพะขนไม่ค่อยก่อให้เกิดความเสี่ยงในการติดต่อของเชื้อ ในแพะขนด้วยกันยังพบว่าแพะพันธุ์ซานและพันธุ์ผสมมีความชุกต่ำกว่าพันธุ์อื่น ซึ่งความชุกที่แตกต่างระหว่างสายพันธุ์อาจมาจากความไวต่อการติดเชื้อที่ต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2533; Grewal *et al.*, 1986; Robinson and Ellis, 1986; Cutlip *et al.*, 1992; Gufler *et al.*, 2007) มีความแตกต่างของระดับความชุกของการติดเชื้อในแพะแต่ละช่วงอายุ โดยพบความชุกเพิ่มสูงขึ้นตามอายุของแพะ ซึ่งเป็นผลมาจากการติดเชื้อสามารถเกิดขึ้นได้จากการสัมผัสเมื่อแพะถูกเลี้ยงร่วมกันเป็นเวลานาน โอกาสที่จะติดเชื้อจึงสูงขึ้น และการติดเชื้อนี้เป็นการติดเชื้อตลอดชีวิต อีกทั้งการสร้างแอนติบอดีอาจเกิดขึ้นช้า ทำให้ตรวจไม่พบการติดเชื้อด้วยวิธีการทางซีรัมวิทยาในแพะที่เพิ่งเริ่มติดเชื้อ แต่จะสามารถตรวจพบได้เมื่อแพะอายุมากขึ้น (Gonzalez *et al.*, 1987; Garcia *et al.*, 1992; Rowe *et al.*, 1992a; Rowe *et al.*, 1992b; Greenwood *et al.*, 1995b; Nord

et al., 1998a; Nord *et al.*, 1998b; Al-Qudah *et al.*, 2006) Cutlip *et al.* (1992) พบว่าความชุกของการติดเชื้อจะเพิ่มขึ้นตามอายุของแพะ โดยเฉลี่ย 14% ต่ออายุที่เพิ่มขึ้น 1 ปี แต่ความชุกในแพะที่อายุมากกว่า 3 ปีจะไม่เพิ่มขึ้นเนื่องจากเกษตรกรที่เข้าร่วมในการศึกษาดังกล่าวได้ทำการคัดทิ้งแพะที่แสดงอาการของโรคออกจากฝูง ทั้งนี้มีการจัดการหลายอย่างที่พบว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงในการแพร่กระจายเชื้อ เช่น การเลี้ยงฝูงขนาดใหญ่ ความหนาแน่นในการเลี้ยงมาก การนำเข้าแพะจากแหล่งอื่น การสัมผัสกับแพะฝูงอื่น การเคลื่อนย้ายแพะ การเลี้ยงแพะภายในโรงเรือน (Cutlip *et al.*, 1992; Rowe *et al.*, 1992b; Greenwood *et al.*, 1995; Baba *et al.*, 2000; Al-Qudah *et al.*, 2006; Gufler *et al.*, 2007)

ทางหลักในการติดต่อของเชื้อ CAEV คือ ทางการกินนมและนม น้ำเหลืองจากแม่แพะที่ติดเชื้อ โดย Adams *et al.* (1983a) พบว่าการป้องกันไม่ให้ลูกแพะที่เกิดจากแม่แพะที่ติดเชื้อดูดนมแม่สามารถลดการติดเชื้อได้ และยังพบเชื้อจำนวนมากในน้ำนมของแม่แพะที่ติดเชื้อทั้งที่แสดงอาการและไม่แสดงอาการ อย่างไรก็ตามลูกแพะที่ได้รับนม น้ำเหลืองจากแม่แพะที่ติดเชื้ออาจจะไม่ติดเชื้อ นอกจากนี้ยังตรวจไม่พบเชื้อในน้ำนมของแม่แพะตัวดังกล่าว โดยประมาณ 78% ของลูกแพะที่ได้รับนม น้ำเหลืองและนมจากแม่แพะที่ติดเชื้อจะเกิดการติดเชื้อ (Ellis *et al.*, 1983b; Rimstad *et al.*, 1993) นอกจากนี้เชื้อ CAEV สามารถติดต่อผ่านการสัมผัสทั้งทางตรงและทางอ้อมกับสิ่งคัดหลั่งจากระบบสืบพันธุ์ น้ำลาย มูลหรือสิ่งคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจ ที่มี monocyte และ macrophage ที่ติดเชื้ออยู่ โดยการจัดการ สภาพแวดล้อม สายพันธุ์ของเชื้อ และสายพันธุ์ของแพะเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อการติดเชื้อผ่านทางสัมผัส แต่การติดต่อทางการสัมผัสนี้จะพบในแพะที่สัมผัสกับแพะที่ติดเชื้อเป็นเวลานาน (Smith *et al.*, 1981; Adams *et al.*, 1983a; Rowe *et al.*, 1991; Greenwood *et al.*, 1995; Nord *et al.*, 1998b; Konishi *et al.*, 2004; Gufler *et al.*, 2007)

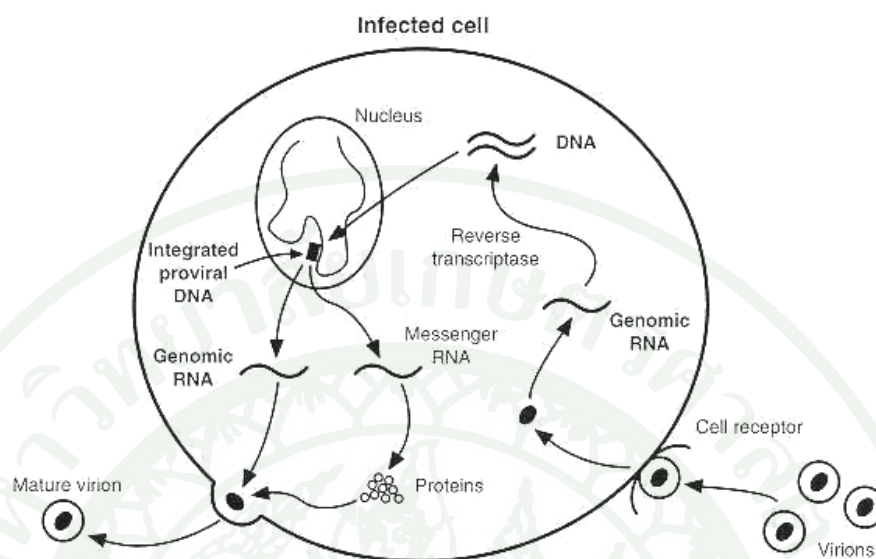
การใช้เข็มฉีดยาหรืออุปกรณ์ที่มีการปนเปื้อนเล็ดร่วกันอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อได้ เนื่องจากเชื้ออยู่ในเม็ดเลือดขาว (Al-Ani and Vestweber, 1984a) เช่นเดียวกับการติดเชื้อโดยมีแมลงดูดเลือดเป็นพาหะที่อาจเกิดขึ้นได้ อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการติดต่อของเชื้อโดยมีแมลงดูดเลือดเป็นพาหะ (Reilly *et al.*, 2002) การศึกษาของ Lerondelle *et al.* (1995) พบว่าเชื้อ CAEV สามารถติดต่อผ่านทางเต้านมได้ การติดต่อทางการผสมพันธุ์เป็นอีกทางหนึ่งที่สามารถเกิดขึ้นได้เนื่องจากพบเชื้อ CAEV ในน้ำเชื้อของแพะที่ติดเชื้อ (Rowe *et al.*, 1992b; Travassos *et al.*, 1999) Peterson *et al.* (2008) พบ proviral DNA ในน้ำเชื้อทั้งในแพะที่ตรวจพบและไม่พบแอนติบอดีต่อการติดเชื้อและ proviral DNA จากการตรวจเลือดด้วย PCR โดยการตรวจพบเชื้อในน้ำเชื้อนั้นไม่คงที่ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากฤดูกาลผสมพันธุ์ โดยในฤดูกาลผสมพันธุ์พ่อแพะมักจะมีความเครียด

ทำให้มีเชื้อปริมาณมากในร่างกายและถูกขับออกมากับน้ำเชื้อมาก และสำหรับการตรวจหา proviral DNA ในเนื้อเยื่อของระบบสืบพันธุ์เพศผู้จากการศึกษาเดียวกันนี้ พบเชื้อในเนื้อเยื่ออัมตะ seminal vesicle และ bulbo-urethral gland ดังนั้นจึงควรคัดเลือกแพะที่ไม่ติดเชื้อโดยการตรวจเลือดด้วยวิธี PCR เพื่อใช้เป็นพ่อพันธุ์สำหรับผสมตามธรรมชาติ รวมทั้งใช้รีดน้ำเชื้อเพื่อผสมเทียม เพื่อป้องกันการแพร่กระจายโรคทางการผสมพันธุ์ นอกจากนี้เชื้อ CAEV ยังอาจติดต่อจากแม่สู่ลูกภายในมดลูกได้ โดยพบว่าลูกแพะบางตัวที่เกิดจากการผ่าคลอดมีการติดเชื้อ (Adams *et al.*, 1983a; Ali, 1987) และยังพบเชื้อที่ผนังชั้นในของมดลูก และท่อนำไข่ ซึ่งทำให้อาจเกิดการติดเชื้อระหว่างที่ตัวอ่อนอยู่ในท่อนำไข่หรือมดลูก หรืออาจติดเชื้อระหว่างที่ตัวอ่อนเคลื่อนผ่านทางช่องคลอด (Fieni *et al.*, 2003) ในทางตรงข้าม บางรายงานพบว่าเชื้อ CAEV ไม่สามารถติดต่อจากแม่สู่ลูกภายในมดลูกได้ เนื่องจากไม่พบเชื้อและแอนติบอดีต่อการติดเชื้อในลูกแพะที่ได้จากการผ่าคลอด (Adams *et al.*, 1980a) การใช้เทคโนโลยีช่วยสืบพันธุ์ เช่น การผลิตตัวอ่อนนอกร่างกาย อาจเป็นสาเหตุให้เกิดการแพร่กระจายของ CAEV ได้ เนื่องจากพบเชื้อใน granulosa cell ของ ovarian follicle จากแม่แพะที่ติดเชื้อ ดังนั้นในกรณีที่ต้องการใช้ follicle จึงควรเลือกจากแม่แพะที่ไม่ติดเชื้อ (Lamara *et al.*, 2001)

สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการติดเชื้อ CAEV ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2528 โดยพบการติดเชื้อในฝูงแพะพันธุ์ซานเนอที่เลี้ยงในสถานีวิจัยพันธุ์สัตว์หนองขาว จังหวัดราชบุรี ในระหว่างปี พ.ศ. 2527 ถึง 2528 (อุราศรี และคณะ, 2528) ต่อมาในช่วงปี พ.ศ. 2530 และ 2531 ชัยวัฒน์ และคณะ (2533) ได้ทำการสำรวจทางซีรัมวิทยาต่อการติดเชื้อ CAEV ในแพะที่เลี้ยงทางภาคเหนือของประเทศไทยจำนวน 155 และ 365 ตัวอย่าง พบให้ผลบวกต่อการทดสอบด้วยวิธี AGID จำนวน 1 ตัวอย่าง และไม่พบตัวอย่างที่ให้ผลบวก ตามลำดับ โดยแพะที่ให้ผลบวกนั้นเป็นแพะนมพันธุ์ซานเนอ และจากการศึกษาในฟาร์มแพะแห่งหนึ่งในจังหวัดราชบุรี ที่มีแพะแสดงอาการข้ออักเสบ พบความชุกจากการทดสอบทางซีรัมด้วยวิธี AGID 21% (25/119) จากการสังเกตอาการในแพะที่ติดเชื้อ พบว่าแพะส่วนใหญ่ที่แสดงอาการจะแสดงอาการข้ออักเสบ ซึ่งมักจะเป็นที่ขาหน้าก่อน (สุพล และ มนัสชัย, 2548)

พยาธิกำเนิด (Pathogenesis)

เชื้อ CAEV ที่เข้าสู่ร่างกายผ่านช่องทางหลักของการติดเชื้อ คือ การกินนมหรือนม น้ำเหลือง ที่มีเชื้อ จะถูกดูดซึมผ่านระบบทางเดินอาหาร เข้าสู่ monocyte เกิดการสังเคราะห์ proviral DNA ซึ่งเป็นระยะแฝงตัวของเชื้อที่รวมตัวอยู่กับโครโมโซมของเซลล์โฮสต์ เชื้อจะเพิ่มจำนวนในต่อมน้ำเหลือง ม้าม และไขกระดูก (Cork and Narayan, 1980; Narayan *et al.*, 1983; Shuljak, 2007) หลังจากนั้นจะแพร่กระจายผ่านทางระบบไหลเวียนเลือดไปยังอวัยวะต่างๆในร่างกาย (Adams *et al.*, 1980b; Cork and Narayan, 1980) อย่างไรก็ตาม มีเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดเพียง 1 ใน 5×10^7 เซลล์เท่านั้นที่ติดเชื้อ (Ellis, 1990) เมื่อเชื้อเข้าสู่เซลล์มันจะปล่อย RNA เข้าสู่ cytoplasm และจะถูกแปลไปเป็น proviral DNA โดย reverse transcriptase ของตัวเชื้อ ต่อมา proviral DNA จะเข้าไปในนิวเคลียสแล้วรวมตัวเข้ากับ DNA ของเซลล์โฮสต์ จากนั้นจึงเปลี่ยนกลับไปเป็นจีโนมและ mRNA ด้วยเอนไซม์จากโฮสต์ ในที่สุด mRNA จะถูกแปลกลับไปเป็น polypeptide ของเชื้อใน cytoplasm ของเซลล์ที่ติดเชื้อ (Zink *et al.*, 1987) ดังภาพที่ 2 โดย productive infection จะเกิดขึ้นเมื่อ monocyte ที่ติดเชื้อ ซึ่งมีแคจีโนมของเชื้อแต่ไม่มีตัวเชื้อ เข้าสู่อวัยวะเป้าหมายและพัฒนาไปเป็น macrophage ซึ่งจะกระตุ้น provirus ให้แปล proviral DNA กลับไปเป็น mRNA และโปรตีนออกจากเซลล์กลายเป็นเชื้อไวรัส ดังนั้น monocyte จึงมีส่วนสำคัญในการกระจายเชื้อไปสู่อวัยวะเป้าหมาย ทำให้เซลล์ของอวัยวะเป้าหมายเกิดการติดเชื้อ ส่วน macrophage มีส่วนสำคัญในการเพิ่มจำนวนของเชื้อ (Narayan and Cork, 1990; Shuljak, 2007) ด้วยเหตุนี้การเพิ่มจำนวนของเชื้อจึงสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของเซลล์จาก monocyte เป็น macrophage (Narayan *et al.*, 1983)



ภาพที่ 2 พยาธิกำเนิดของการติดเชื้อ CAEV

ที่มา: Cloyd (2010)

เมื่อแพะติดเชื้อร่างกายจะตอบสนองด้วยการสร้างภูมิคุ้มกันทั้งชนิดพึ่งเซลล์ (cell mediated immunity) และชนิดอาศัยสารน้ำ (humoral immunity) (Adams *et al.*, 1980a) โดยสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อที่ร่างกายสร้างขึ้นได้เร็วที่สุด 3 สัปดาห์หลังจากการติดเชื้อ (Ellis *et al.*, 1986) และจะสูงสุดที่ 48-77 วันหลังการติดเชื้อ จากนั้นระดับแอนติบอดีจะลดลงและคงที่ในที่สุด (Al-Ani and Vestweber, 1984b; Al-Ani and Vestweber, 1984c; Al-Ani and Vestweber, 1984d) แอนติบอดีที่ถูกแพะได้รับจากแม่จะสามารถตรวจพบได้จนถึงวันที่ 60 หลังคลอด แต่แอนติบอดีที่ได้รับจากแม่นี้ไม่มีผลในการป้องกันการติดเชื้อให้แก่ลูกแพะ (Adams *et al.*, 1983a; Nord *et al.*, 1998a) แอนติบอดีที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อจะคงอยู่ตลอดชีวิต (Cheevers *et al.*, 1988) แต่แอนติบอดีดังกล่าวจะไม่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อ และการเกิดรอยโรคได้ เนื่องจากไม่มี neutralizing antibody เพราะ envelop glycoprotein เกิด hyperglycosylation ทำให้ไม่สามารถเข้าถึง neutralizing epitope ได้ และเชื่อมีการแทรกซึมเข้ากับจีโนมของแพะ อีกทั้งเชื้อยังอยู่ในเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Narayan *et al.*, 1984; Smith and Cutlip, 1988b; Cheevers *et al.*, 1991; Shuljak, 2007) เชื้อ CAEV ยังสามารถเปลี่ยนแปลงทางแอนติเจนเพื่อหลบหนีระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายได้ โดยเปลี่ยนแปลงส่วน envelop glycoprotein (Ellis *et al.*, 1987; Reilly *et al.*, 2002) นอกจากนี้ Natural Killing activity ของเซลล์จากแพะที่ติดเชื้อยังต่ำกว่าแพะที่ไม่ติดเชื้อ (Mdurwa

et al., 1994) จากสาเหตุทั้งหมดนี้จึงทำให้แพะที่ติดเชื้อไม่สามารถกำจัดเชื้อออกจากร่างกายได้และต้องติดเชื้อไปตลอดชีวิต (Adams *et al.*, 1980a) Ellis (1990) พบว่าระดับแอนติบอดีทั้งต่อ core protein และ envelop protein ไม่สัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่ติดเชื้อ จึงสรุปว่าแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นไม่ได้มีความสำคัญต่อการควบคุมการติดเชื้อ แต่มีความสำคัญในการช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อ

ในช่วงแรกของการติดเชื้อ CAEV เชื้อจะมีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วโดยสร้าง DNA ที่จะรวมเข้ากับจีโนมของโฮสต์ ทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ซึ่งจะจำกัดเชื้อได้แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อได้ (Reilly *et al.*, 2002) หลังจากนั้นเชื้อที่อยู่ในร่างกายมักอยู่ในภาวะซ่อนเร้น (provirus) ซึ่งจะมีการเพิ่มจำนวนไม่มาก ทำให้ระดับแอนติเจนไม่ถึงระดับที่ร่างกายสามารถตรวจพบและทำลายเชื้อได้ (Haase, 1986a) โดย Adams *et al.* (1980b) พบว่าสามารถตรวจพบแอนติเจนได้ในช่วงแรกของการติดเชื้อก่อนที่จะแสดงอาการ แต่เมื่อมีการพัฒนาของรอยโรคขึ้นอาจตรวจไม่พบแอนติเจน โดยในแพะที่แสดงอาการจะพบว่าการติดเชื้อในระบบต่ำ แต่มีการเพิ่มจำนวนของเชื้อในเนื้อเยื่อที่เกิดรอยโรค (Narayan and Cork, 1990) เชื้อจะอยู่ใน macrophage ของเนื้อเยื่อบริเวณข้อ ปอด ระบบประสาทส่วนกลาง และเต้านม (Reilly *et al.*, 2002) แพะบางตัวอาจสร้างแอนติบอดีหลังจากติดเชื้อมาแล้วเป็นเวลานาน และยังพบว่าแพะที่ติดเชื้อบางตัวมีระดับแอนติบอดีไม่คงที่ เช่น แพะที่ติดเชื้อมาเป็นเวลานานอาจจะมีระดับแอนติบอดีในซีรัมต่ำ แม้ในช่วงใกล้คลอดอาจจะมีระดับแอนติบอดีในซีรัมต่ำเช่นกัน แต่จะมีระดับแอนติบอดีในน้ำนมสูง ซึ่งการสร้างแอนติบอดีหลังจากติดเชื้อมาแล้วเป็นเวลานานและการที่ระดับของแอนติบอดีต่อการติดเชื้อไม่แน่นอนจะมีผลต่อการทดสอบการติดเชื้อรวมถึงการควบคุมการติดเชื้อ (Rimstad *et al.*, 1993; Rimstad *et al.*, 1994; Hanson *et al.*, 1996; Nord *et al.*, 1998b; Konishi *et al.*, 2004; Guflier *et al.*, 2007)

รอยโรคหลักที่เกิดจากการติดเชื้อ CAEV คือ การอักเสบแบบไม่มีหนอง (nonsuppurative inflammation) ที่เนื้อเยื่อเป้าหมาย ได้แก่ เนื้อเยื่อบริเวณข้อ ระบบประสาทส่วนกลาง ปอด และเต้านม รวมทั้งอวัยวะส่วนอื่น เช่น ไต เยื่อหุ้มหัวใจ (Adams *et al.*, 1980b; Cheevers *et al.*, 1988) ซึ่งรอยโรคที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลจากปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ที่ได้รับการเหนี่ยวนำจากการถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจนอย่างเรื้อรัง (Adams *et al.*, 1980b) อย่างไรก็ตาม การติดเชื้อ CAEV ไม่ได้กดภูมิคุ้มกันของร่างกายเหมือนกับที่เชื้อหลายชนิดในสกุล retrovirus ก่อให้เกิด (Adams *et al.*, 1980a)

อาการ (Clinical signs)

อาการที่เกิดจากการติดเชื้อ CAEV เกิดขึ้นได้หลายรูปแบบ ปัจจัยที่อาจส่งผลต่อการแสดงอาการที่เกิดจากการติดเชื้อ CAEV ประกอบด้วย อายุ สถานภาพทางฮอร์โมน สภาพแวดล้อม ช่วงเวลาที่ติดเชื้อ สายพันธุ์ของเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ได้รับ และสายพันธุ์ของแพะ (Adams *et al.*, 1980a; Cork and Narayan, 1980; Crawford *et al.*, 1980b; Cheevers *et al.*, 1988) เนื่องจากแพะที่ติดเชื้อมากกว่า 75% ไม่แสดงอาการให้เห็น (Crawford and Adams, 1981; Grewal *et al.*, 1986) ทำให้เกษตรกรไม่ทราบสถานภาพของการติดเชื้อภายในฝูงจึงเป็นโอกาสให้มีการเกิดการแพร่กระจายของเชื้อได้มาก (Guffler *et al.*, 2007) แพะที่แสดงอาการมักจะแสดงอาการหลังจากติดเชื้อมาแล้วเป็นเวลานาน เนื่องจากเชื้อมีระยะฟักตัวยาวนาน เพราะเชื้อแบ่งตัวและออกจากเซลล์ที่ติดเชื้อได้ช้า (Dahlberg *et al.*, 1981; Greenwood *et al.*, 1995a) ยกเว้นในลูกแพะที่จะแสดงอาการทางระบบประสาทหลังมีการติดเชื้อไม่นาน (Narayan and Cork, 1985)

อาการจากข้ออักเสบ (Arthritis)

เป็นอาการที่พบได้มากที่สุดในการติดเชื้อ CAEV เนื่องจากเชื้อมีชอบเนื้อเยื่อบริเวณข้อ (Adams *et al.*, 1980b) มักพบอาการนี้ในแพะที่สมบูรณ์พันธุ์แล้ว ที่อายุประมาณ 1-2 ปี ซึ่งอาการอาจจะค่อยๆ เกิดขึ้นหรือเกิดแบบเฉียบพลันก็ได้ โดยสามารถพบความผิดปกติบริเวณข้อได้ภายใน 2 ถึง 7 เดือนหลังจากได้รับเชื้อ สามารถเกิดความผิดปกติได้ที่ข้อของขาทุกข้อ และข้อ atlanto-occipital โดยในแพะหนึ่งตัวอาจพบความผิดปกติเพียงข้อเดียวหรือหลายข้อก็ได้ แต่ตำแหน่งที่มักพบความผิดปกติรุนแรงและพบได้บ่อย ได้แก่ ด้านหน้าของข้อ carpus ตามด้วย hock และ stifle ซึ่งสาเหตุที่พบความผิดปกติที่ข้อ carpus มาก อาจเนื่องจากความผิดปกติที่เกิดขึ้นบริเวณนี้สามารถเห็นได้ชัดเจนกว่าที่บริเวณอื่น (สุพล และคณะ, 2548; Adams *et al.*, 1980b; Crawford and Adams, 1981; Gonzalez *et al.*, 1987; Smith and Sherman, 1994) ในช่วงแรกความผิดปกติมักไม่ค่อยเด่นชัด แพะจะแสดงอาการเพียงเคลื่อนไหวน้อยลง กินอาหารลดลง ไม่อยากลุกขึ้น ทำยืนและเดินผิดปกติ และน้ำหนักตัวลดลง ส่วนในแพะที่มีอาการแบบเฉียบพลันอาจพบการบวมบริเวณข้อ (Smith and Sherman, 1994) โดยทั่วไปแพะที่มีอาการข้ออักเสบเนื่องจากการติดเชื้อ CAEV จะไม่มีไข้ ไม่เบื่ออาหาร (Konishi *et al.*, 2004) ข้อที่บวมเกิดเนื่องจากมีน้ำไขข้อปริมาณมากขึ้น รวมถึงมีการแทรกตัวของ mononuclear cell และมีแร่ธาตุมาสะสมในเนื้อเยื่อบริเวณข้อ หากสัมผัสภายนอกจะพบว่าบริเวณที่บวมมีการกระเพื่อมน้ำ เย็นและแพะจะไม่แสดงอาการเจ็บ แต่เมื่อติดเชื้อเป็นเวลานานขึ้น อาการจะพัฒนาขึ้น บริเวณที่บวมจะแข็งขึ้น มีการอักเสบและการหนาตัวของเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น จนเกิด

ความเจ็บปวดขึ้นได้ (Adams *et al.*, 1980a; Adams *et al.*, 1980b; Smith and Sherman, 1994) แพะที่มีอาการข้ออักเสบรุนแรงมักจะล้มนอนทำให้เกิดผิวหนังอักเสบ แผลหลุม ฝีและกระดูกอักเสบตามมา การที่ไม่ค่อยได้เดินและการเดินที่ผิดปกติจะทำให้กับยาวและผิดปกติ (Crawford *et al.*, 1980b) กรณีที่เป็นโรคแบบรุนแรงมาเป็นระยะเวลานานจะทำให้เกิดการเบี่ยงของขา ข้อผิดปกติ เ็นฉีก กระดูกทรุด ข้อที่มีปัญหาและไม่ได้ถูกใช้งานเป็นเวลานานจะเคลื่อนไหวได้น้อยลงจนไม่สามารถขยับได้อย่างอิสระเนื่องจากเอ็นยึด (Crawford *et al.*, 1980b)

ความรุนแรงของอาการข้ออักเสบจะสัมพันธ์กับปริมาณของเชื้อภายในข้อ (Cheevers *et al.*, 1991) นอกจากนี้ Knowles *et al.* (1990) ยังรายงานว่าระดับความรุนแรงของการเกิดภาวะข้ออักเสบจากการติดเชื้อ CAEV จะสัมพันธ์โดยตรงกับระดับของแอนติบอดีต่อ surface glycoprotein gp135 โดยระดับแอนติบอดีในน้ำไขข้อจะมีความสัมพันธ์ในทางเดียวกันกับความรุนแรงของอาการมากกว่าระดับแอนติบอดีในซีรัม ระดับแอนติบอดีในน้ำไขข้อที่มากกว่า 10^3 จะสัมพันธ์กับการเกิดข้ออักเสบ แพะที่มีอาการข้ออักเสบมักจะซูบผอม ผิวหนังหยาบ และขนยาวร่วมด้วย (Crawford *et al.*, 1981) อาการข้ออักเสบจากการติดเชื้อ CAEV ต้องวินิจฉัยแยกจากข้ออักเสบจากการติดเชื้อ *Mycoplasma spp.* และ *Chlamydia spp.* และข้ออักเสบจากการขาดสารอาหาร การบาดเจ็บ หรือการติดเชื้ออื่นๆ (Cork, 1976; Crawford and Adams, 1981)

อาการทางระบบประสาท (Encephalomyelitis)

มักพบในลูกแพะอายุ 2-4 เดือน แต่อาจเกิดขึ้นในแพะโตร่วมกับอาการข้ออักเสบได้ และลูกแพะที่มีอาการทางระบบประสาทอาจมีอาการในระบบทางเดินหายใจร่วมด้วย โดยแพะที่มีอาการในระบบประสาทมักจะแสดงอาการขาอ่อนแรง เดินโซเซ กล้ามเนื้อขาที่อ่อนแรงอาจลีบลง โดยส่วนมากจะแสดงอาการที่ขาหลังก่อน และมีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จนในที่สุดจะไม่สามารถลุกขึ้นได้ นอกจากนี้จะมีภาวะขนหยาบ โตช้า แต่จะไม่มีไข้ ยังคงกินอาหารได้เป็นปกติ และตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นได้ดี ในกรณีที่รุนแรงถึงขั้น 4 ขา มักจะมีอาการท้องอืดเกิดขึ้นตามมา ความผิดปกติทางระบบประสาทที่เกิดขึ้นนี้เป็นผลมาจากความผิดปกติที่เกิดขึ้นบริเวณไขสันหลัง (Cork *et al.*, 1974; Collins, 1976; Crawford and Adams, 1981; Smith and Sherman, 1994) พบรอยโรคได้บ่อยที่ไขสันหลังส่วน cervical และ lumbosacral โดยมักจะอยู่ในส่วน white matter ซึ่งจะมี mononuclear cell มาสะสมรอบหลอดเลือด (perivascular cuffing) และ myelin sheath ถูกทำลาย จึงทำให้มี reflex และ muscle tone มากขึ้น แต่หากรอยโรคเกิดใน grey matter ของไขสันหลัง reflex และ muscle tone จะลดลง (Cork *et al.*, 1974; Smith and Sherman, 1994) พบอาการที่เกิดจากความ

ผิดปกติของสมองได้บ้าง เช่น อาการสั่น น้ำลายไหล ตากระตุก เดินวน หัวเอียง ซึ่งเกิดจากความผิดปกติของสมองส่วน cerebrum (Smith and Sherman, 1994) ลูกแพะที่ติดเชื้อมาเป็นเวลานานมักมีการติดเชื้อแทรกซ้อนและอาจทำให้ตายได้ในที่สุด อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าลูกแพะบางตัวที่ป่วยด้วยอาการทางระบบประสาทอาจรอดชีวิต โดยยังคงมีอาการหลงเหลืออยู่บ้าง (Narayan and Cork, 1990; Smith and Sherman, 1994)

แพะที่ป่วยด้วยอาการทางระบบประสาทจะต้องทำการวินิจฉัยแยกโรคออกจาก white muscle disease ข้ออักเสบจากการติดเชื้อ การบาดเจ็บในระบบประสาท polioencephalomalacia การติดเชื้อ *Listeria monocytogenes* การติดเชื้อ *Toxoplasma gondii* โรค scrapie และภาวะขาดทองแดง (Collins, 1976) คำทางโลหิตวิทยา ชีวเคมีและแร่ธาตุในเลือดของลูกแพะที่มีอาการในระบบประสาทจะอยู่ในระดับปกติ แต่อาจพบภาวะโลหิตจางได้เนื่องจากการขาดอาหาร และเซลล์ที่พบในน้ำสมองและไขสันหลังส่วนใหญ่จะเป็น lymphocyte (Cork *et al.*, 1974)

อาการจากระบบทางเดินหายใจ (Pneumonia)

อาการจากระบบทางเดินหายใจที่เกิดขึ้นในแพะที่ติดเชื้อ CAEV มักเกิดขึ้นหลังจากถูกโน้มนำด้วยภาวะเครียด โดยแพะจะแสดงอาการเหนื่อยง่าย หายใจลำบาก ไอ ร่างกายซบพอม อาจเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียในระบบทางเดินหายใจแทรกซ้อน (Smith and Sherman, 1994) โดยความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจเกิดมาจากการแทรกตัวของ mononuclear cell เข้าสู่เนื้อเยื่อ interstitial ของปอด โดยเฉพาะปอดส่วน caudal และ cranioventral lobe ซึ่งมักจะเป็นการอักเสบแบบเรื้อรัง (Chronic interstitial pneumonia) (Ellis *et al.*, 1988)

เต้านมอักเสบ (Mastitis)

มักเกิดในแพะหลังคลอด 1-3 วัน โดยเต้านมจะมีลักษณะแข็งมาก ต่อมาน้ำเหลืองบริเวณเต้านมขยายใหญ่ขึ้น แต่เต้านมจะไม่บวม น้ำไม่แดงและไม่ร้อน เต้านมที่อักเสบจะให้นมลดลง ซึ่งเกิดเนื่องจากเนื้อเยื่อเต้านมถูกทำลาย รวมทั้งอาจมีการติดเชื้อแบคทีเรียร่วมด้วย น้ำนมที่ได้เมื่อดูจากภายนอกจะคล้ายกับน้ำนมปกติ แต่เมื่อนำไปตรวจทางห้องปฏิบัติการจะพบว่ามีปริมาณโซมาติกเซลล์เพิ่มขึ้น และมี N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase) activity สูงกว่าน้ำนมจากแพะที่ไม่ได้ติดเชื้อ แพะที่มีอาการเต้านมอักเสบจากการติดเชื้อ CAEV จะไม่มีอาการป่วยทางระบบ เช่น ซึม มีไข้ ร่วมด้วย อีกทั้งไม่มีลักษณะของเต้านมอักเสบจากการติดเชื้อแบคทีเรีย (Robinson and

Ellis, 1986; Ryan *et al.*, 1993; Smith and Sherman, 1994; Nord and Adnoy, 1997) ความผิดปกติที่เกิดจากเต้านมอักเสบในวงจรการให้นมถัดไปในแพะตัวเดิมจะมีความรุนแรงน้อยลง (Smith and Sherman, 1994) การเพิ่มจำนวนของโซมาติกเซลล์ในแพะที่ติดเชื้อ CAEV จะส่งผลกระทบถึงการควบคุมโรคเต้านมอักเสบที่ต้องใช้โซมาติกเซลล์ในการติดตามสถานภาพของโรคในฝูง และยังทำให้การขายนมถูกจำกัด (Contreras *et al.*, 1998) Lerondelle *et al.* (1995) สามารถแยกเชื้อจากนมของแพะที่ติดเชื้อที่อยู่ในระยะแห้งนมได้มากกว่าแพะที่อยู่ในระยะให้นม จึงกล่าวว่าการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างน้ำนมในช่วงท้ายของการตั้งท้อง เช่น โปรแลคตินและออกซิโทซิน อาจมีผลให้เซลล์ในเต้านมที่ติดเชื้อมีการแสดงออกของเชื้อมากขึ้น ดังนั้นระยะการให้นมจึงมีผลต่อการพัฒนาการติดเชื้อ CAEV

แพะที่ติดเชื้อ CAEV ทั้งที่มีความผิดปกติและไม่มี ความผิดปกติในระบบใดของร่างกายมักจะซูบผอม เนื่องจาก monocyte ที่ติดเชื้อจะหลั่ง cachexin ที่เป็นตัวยับยั้งการแสดงออกของ adipocyte gene และการสร้าง lipogenic enzyme (Haase, 1986b) อาจพบแพะที่ติดเชื้อแสดงอาการหลายระบบร่วมกัน เช่น อาการในระบบทางเดินหายใจร่วมกับข้ออักเสบหรืออาการทางระบบประสาท (Grewal *et al.*, 1986; Zink *et al.*, 1990) นอกจากนี้ Smith and Cutlip (1988a) และ Greenwood (1995a) ยังพบปัญหาอื่นๆ เพิ่มขึ้นในแพะที่ติดเชื้อ CAEV เช่น ปัญหาในระบบสืบพันธุ์ ลูกแพะที่เกิดจากแม่ที่ติดเชื้อจะโตช้า แม่แพะนมที่ติดเชื้อจะให้ผลผลิตตลอดวงจรการให้นมน้อยกว่าและระยะเวลาการให้นมสั้นกว่าแพะปกติ 88 กิโลกรัม และ 21 วันตามลำดับ รวมทั้งมีไขมันนมต่ำกว่าแพะปกติ นอกจากนี้แพะที่ติดเชื้อจะมีโอกาสเกิดปัญหาสุขภาพอื่นๆ เช่น ตาเจ็บ ฝีที่กีบ ท้องเสียจากพยาธิในทางเดินอาหาร แท้ง ครรภ์เป็นพิษ เต้านมอักเสบจากการติดเชื้อแบคทีเรียมากกว่าแพะที่ไม่ติดเชื้อ เชื้อ CAEV ทำให้มดลูกเกิดการเปลี่ยนแปลง และระดับ PGE_2 เพิ่มขึ้นจึงอาจมีผลต่อการตั้งท้องของแม่แพะ (Greenwood, 1995b; Greenwood, 1995c)

การวินิจฉัยโรค (Diagnosis)

การวินิจฉัยการติดเชื้อ CAEV มี 2 วิธีหลัก ได้แก่ การตรวจหาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ และการเพาะแยกเชื้อหรือการตรวจหาแอนติเจน นอกจากนี้ยังมีวิธีการอื่นที่ช่วยในการวินิจฉัย อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีวิธีการใดที่สามารถใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ CAEV ได้ ดังนั้นประสิทธิภาพของแต่ละวิธีจึงขึ้นอยู่กับ การเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น (de Andres *et al.*, 2005) การวินิจฉัยการติดเชื้อ CAEV จากอาการเพียงอย่างเดียวทำได้ยากเนื่องจากแพะที่ติดเชื้อส่วนใหญ่ไม่แสดงอาการ และอาการที่เกิดขึ้นยังไม่เฉพาะเจาะจง จึงต้องใช้การวินิจฉัยอื่นร่วมด้วย (Crawford and Adams, 1981) การวินิจฉัยที่ดีควรใช้หลายอย่างประกอบกัน ได้แก่ ประวัติการติดเชื้อในฝูง การทดสอบทางซีรัมวิทยา อาการที่เกิดจากการติดเชื้อ ลักษณะของน้ำไขข้อ ความผิดปกติทางจุลพยาธิวิทยา และผลการชันสูตรซาก (Smith and Sherman, 1994)

การตรวจหาแอนติบอดี

การวินิจฉัยการติดเชื้อ CAEV ที่สะดวก คือ วิธีการทางซีรัมวิทยาที่ตรวจหาแอนติบอดีจากตัวอย่างจากแพะ ซึ่งมีหลายวิธีที่สามารถใช้ได้ เช่น Agar Gel Immunodiffusion (AGID), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Radio-Immunoprecipitation (RIPA), Radioimmunoassay (RIA) และ Western Blotting (WB) แต่ละวิธีจะมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป การเลือกใช้วิธีใดขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในแต่ละกรณี (de Andres *et al.*, 2005)

ในปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ CAEV คือ AGID และ ELISA (de Andres *et al.*, 2005) ซึ่งผลจากการทดสอบด้วยวิธี AGID และ ELISA มีความสัมพันธ์กันสูง อย่างไรก็ตามวิธี ELISA จะมีความไวในการทดสอบสูงกว่า โดยสามารถตรวจพบการติดเชื้อได้เร็วที่สุด 3 สัปดาห์หลังการติดเชื้อ มีขั้นตอนสะดวกรวดเร็วกว่า และสามารถตรวจได้ครั้งละหลายตัวอย่าง (Adams *et al.*, 1980a; Ellis *et al.*, 1986; Archambault *et al.*, 1988) ส่วนวิธี AGID เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูงจึงมักถูกใช้เป็นวิธีอ้างอิง (reference test) แต่ไม่สามารถใช้เป็นวิธีมาตรฐานได้ (gold standard) เนื่องจากความไวค่อนข้างต่ำ (Brinkhof and van Maanen, 2007) โดยวิธี AGID จะสามารถตรวจพบการติดเชื้อได้หลังจากติดเชื้ออย่างน้อย 8 ถึง 10 สัปดาห์ (Chung and O'Sullivan, 1981) การทดสอบด้วยวิธี ELISA อาจจะได้ผลเร็วกว่าวิธี AGID ในกรณีที่ตัวอย่างมีแอนติบอดีในระดับที่ไม่สูงมากนัก ซึ่งใกล้เคียงกับระดับ cut-off ของชุดทดสอบ (Coackley and Smith, 1984)

แอนติเจนที่ใช้สำหรับการทดสอบด้วยวิธี ELISA มีทั้ง whole virus และ recombinant protein ซึ่งแบบที่ใช้ whole virus จะมีความไวระหว่าง 92%-100% และความจำเพาะระหว่าง 93%-100% ในขณะที่แบบที่ใช้ recombinant protein จะมีความไวอยู่ระหว่างน้อยกว่า 40%-100% ส่วนความจำเพาะจะค่อนข้างสูง แต่หากใช้ recombinant protein หลายชนิดร่วมกันจะทำให้ความไวในการทดสอบสูงขึ้น (de Andres *et al.*, 2005) โดยความไวในการทดสอบที่ต่างกันจากการใช้แอนติเจนที่ต่างกัน เนื่องมาจากแพะที่ติดเชื้อในแต่ละระยะจะมีการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนแต่ละตัวในระดับต่างกัน (Ellis *et al.*, 1986) นอกจากนี้ยังมี competitive ELISA ซึ่งใช้ monoclonal antibody ร่วมในการทดสอบ และพบว่ามีความไวสูงในแพะที่เพิ่งติดเชื้อ (Herrmann *et al.*, 2003)

ปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการ ELISA ให้สามารถตรวจหาแอนติบอดีในน้ำนมได้ ซึ่งมีประโยชน์ คือ การเก็บตัวอย่างทำได้สะดวกกว่า และสามารถใช้น้ำนมในถังนมรวมในการตรวจคัดกรองการติดเชื้อภายในฝูงได้ แต่ระดับแอนติบอดีในน้ำนมจะต่ำกว่าในซีรัมทำให้อาจได้ผลลบเทียมจากการทดสอบตัวอย่างน้ำนม นอกจากนี้ไขมันในน้ำนมอาจเป็นเหตุให้เกิดผลบวกเทียมได้ จึงควรใช้หางนมในการตรวจเนื่องจากแอนติบอดีจะอยู่ในส่วนของหางนม อีกทั้งในหางนมจะไม่มีไขมันที่จะรบกวนผลการตรวจ (Motha and Ralston, 1994; Herrmann *et al.*, 2003; Plaza *et al.*, 2009) อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบจากตัวอย่างซีรัมและน้ำนมด้วย ELISA จะค่อนข้างสอดคล้องกัน (Plaza *et al.*, 2009)

สำหรับ RIPA, RIA และ WB ไม่นิยมใช้ในการคัดกรองโรค เนื่องจากขั้นตอนการตรวจที่ยุ่งยากและต้องใช้เวลาาน แต่มักถูกใช้เป็นวิธีการอ้างอิง ข้อดีของวิธีการเหล่านี้ คือ มีแถบแสดงให้เห็นกรณีที่ให้ผลเป็นบวก ซึ่งทำให้มั่นใจได้มากกว่าวิธี ELISA ที่ดูจากปฏิกิริยาการเปลี่ยนสี อาจใช้ WB เป็นตัวยืนยันผลการทดสอบด้วยวิธีอื่นหรือทดสอบซ้ำกรณีไม่มั่นใจผลการทดสอบด้วยวิธีอื่น อย่างไรก็ตามวิธีทดสอบเหล่านี้อาจให้ผลที่ผิดพลาดได้เช่นกัน (de Andres *et al.*, 2005) การตรวจหาแอนติบอดีในตัวอย่างจากแพะด้วยวิธีการใดก็ตาม อาจให้ผลลบเทียมได้ในกรณีที่แพะมีแอนติบอดีอยู่ในระดับต่ำจนไม่สามารถตรวจพบได้ หรือเชื้อที่ใช้ในชุดทดสอบมีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากเชื้อที่มีการติดต่อกัน (Grewal *et al.*, 1986; Baba *et al.*, 2000)

การตรวจหาแอนติเจน

สามารถแยกเชื้อ CAEV ได้จากการ explant เนื้อเยื่อที่ติดเชื้อลงในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ (Coackley *et al.*, 1981; Narayan *et al.*, 1982; Dawson *et al.*, 1983; Ellis *et al.*, 1983a; Gonzalez *et al.*, 1987; Contreras *et al.*, 1988) หรือเพาะเลี้ยงของเหลวหรือเซลล์ที่ติดเชื้อร่วมกับเซลล์ fibroblast จากแพะหรือแกะที่เหมาะสมและปลอดจากเชื้อ CAEV (Cork *et al.*, 1980; Crawford *et al.*, 1980a; Crawford *et al.*, 1980b; Narayan *et al.*, 1980; Klevjer-Anderson and Cheevers, 1981; Narayan *et al.*, 1982; Ellis *et al.*, 1983b; Ellis *et al.*, 1987; Ellis *et al.*, 1988; Ellis, 1990; Rimstad *et al.*, 1993; Lerondelle *et al.*, 1995; Konishi *et al.*, 2004; Gjerset *et al.*, 2007) ตัวอย่างที่สามารถใช้ในการแยกเชื้อได้ ได้แก่ น้ำไขข้อ เนื้อเยื่อบริเวณข้อ เต้านม น้ำนม สมอง เม็ดเลือดขาว ปอด ไทมีส ม้าม ไชกระดูก ต่อมไทรอย และต่อมน้ำเหลืองของแพะที่ติดเชื้อ โดยเชื้อจะทำให้เกิดการเชื่อมติดกันของเซลล์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง (multinucleated syncytia) ในหนึ่งเซลล์จึงประกอบด้วย 4-20 นิวเคลียส ซึ่งการเชื่อมติดกันของเซลล์ที่เกิดขึ้นถือเป็น cytopathic effect (CPE) ของการติดเชื้อ CAEV (Cork and Narayan, 1980; Coackley *et al.*, 1981; Surman *et al.*, 1987; Cheevers *et al.*, 1988; Cheevers *et al.*, 1991; Lerondelle *et al.*, 1995; Contreras *et al.*, 1998) CPE ดังกล่าวจะพบได้หลังจากการเพาะเลี้ยงเชื้ออย่างน้อย 7-10 วัน (Klevjer-Anderson and Cheevers, 1981; Ellis *et al.*, 1987; Contreras *et al.*, 1998) การเชื่อมติดกันของเซลล์เป็นผลจากการเพิ่มจำนวนของเชื้อในเซลล์ข้างเคียง ทำให้เกิดการเชื่อมกันของ juxtaposed cell membrane (Klevjer-Anderson and Cheevers, 1981) และเกิดจากปฏิสัมพันธ์โดยตรงระหว่างเชื้อไวรัสกับเซลล์ (fusion from without) (Ellis *et al.*, 1985) Surman *et al.* (1987) พบว่าปริมาณ CPE ที่เกิดขึ้นไม่สัมพันธ์กับปริมาณของเชื้อที่อยู่ในร่างกาย

วิธีการเพาะแยกเชื้อถือเป็นการวินิจฉัยที่ยืนยันการติดเชื้อ (definitive diagnosis) และลักษณะของ CPE ที่พบจากการเพาะเลี้ยงเชื้อจะไม่พบในรอยโรคในแพะที่ติดเชื้อ (Narayan and Cork, 1990) การเพาะแยกเชื้อ CAEV ยังมีข้อจำกัด คือ ทำได้ยาก เนื่องจากเชื้อเพิ่มจำนวนได้ช้า มีเชื้อถูกปล่อยจากเซลล์ที่ติดเชื้อจำนวนน้อย (Al-Ani and Vestweber, 1984e) อีกทั้งมีค่าใช้จ่ายสูง ใช้เวลานาน ต้องการเซลล์ที่จำเพาะ ทำให้บางครั้งก็ไม่ประสบความสำเร็จ เซลล์จากเชื้อหุ้มข้อแพะเป็นเซลล์ที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะแยกเชื้อ เนื่องจากไวต่อการเกิด CPE แต่ก็ได้ผลเพียง 50-60% ของแพะที่ติดเชื้อ (Narayan *et al.*, 1980; Knowles *et al.*, 1992) เซลล์ชนิดอื่นๆจากแพะและแกะ เช่น เซลล์บริเวณข้อของลูกแกะ เซลล์ปอดของลูกแกะ เซลล์จากอวัยวะของแพะ สามารถใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ CAEV ได้ แต่เชื้อจะเจริญในเซลล์ที่มีต้นกำเนิดจากแพะได้ดีกว่าเซลล์ที่มาจากแกะ

(Dahlberg *et al.*, 1981; Konishi *et al.*, 2004; Gjerset *et al.*, 2007) สำหรับการเพาะแยกเชื้อจากตัวอย่างน้ำนม โอกาสที่จะเพาะแยกเชื้อได้ขึ้นอยู่กับปริมาณเซลล์ในน้ำนม โดยเฉพาะปริมาณ macrophage (Lerondelle *et al.*, 1995) เซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อสามารถนำไปตรวจหาแอนติเจนด้วยวิธีต่างๆ ได้ โดยการใช้แอนติบอดีที่จำเพาะ หรือดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ซึ่งจะพบเชื้อรูปทรงกลม มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 80-110 นาโนเมตร พบ C-type budding ที่มีรูปร่างไม่แน่นอนบริเวณ cytoplasmic membrane (Ellis *et al.*, 1983a; Al-Ani, 1984e) นอกจากนี้ supernatant จากการเพาะแยกเชื้อสามารถใช้ในตรวจหา reverse transcriptase activity หรือโปรตีนของเชื้อได้ (Reina *et al.*, 2009)

การตรวจหาเชื้ออีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อ CAEV คือ วิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) ซึ่งเหมาะสำหรับทดสอบในแพะที่ให้ผลการทดสอบทางซีรัมเป็นลบแต่มีแนวโน้มว่าสัมผัสเชื้อ เช่น ลูกแพะที่เกิดจากแม่ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบทางซีรัม เนื่องจากวิธีนี้จะสามารถตรวจพบการติดเชื้อได้เร็วกว่าการตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธีการทางซีรัมวิทยา (Clavijo and Thorsen, 1996a) อย่างไรก็ตามความไวของการทดสอบด้วยวิธี PCR ก็ยังต่ำกว่าวิธี ELISA (de Andres *et al.*, 2005) ความจำเพาะของวิธี PCR มีความสำคัญในการวินิจฉัย เนื่องจากแพะสามารถติดเชื้อชนิดอื่นในสกุล retrovirus ได้ (Clavijo and Thorsen, 1996b) และมีความแตกต่างของสายพันธุ์ของเชื้อในแต่ละพื้นที่ จึงควรออกแบบ primer ให้เหมาะสมกับเชื้อที่พบในพื้นที่ (de Andres *et al.*, 2005) ในการตรวจหาเชื้อด้วยวิธี PCR ควรจะทำการเพิ่มจำนวนเชื้อก่อน โดยเฉพาะในกรณีที่แพะอยู่ในระยะแรกของการติดเชื้อ เนื่องจากเชื้อที่มีอยู่ในตัวอย่างที่ได้จากแพะไม่มากพอที่จะตรวจพบ (Clavijo and Thorsen, 1996a) ผลการทดสอบด้วยวิธี PCR อาจไม่คงที่เช่นเดียวกับการทดสอบทางซีรัมวิทยา โดยแพะที่เคยให้ผลบวกต่อการทดสอบอาจให้ผลลบในการทดสอบครั้งถัดไป (Konishi *et al.*, 2004) ตัวอย่างที่สามารถใช้ในการตรวจด้วยวิธี PCR ได้แก่ เม็ดเลือดขาวจากกระแสเลือด น้ำนม และน้ำไขข้อ โดยในกรณีที่ต้องการตรวจหาตัวเชื้อซึ่งเป็น RNA จะต้องใช้วิธี RT-PCR ในขณะที่วิธี PCR จะใช้ในการตรวจหา proviral DNA ของเชื้อในเนื้อเยื่อต่างๆ ที่ติดเชื้อ (Reilly *et al.*, 2002) จากการตรวจด้วยวิธี PCR Rimstad *et al.* (1993) พบว่าปริมาณเชื้อในน้ำนมจะมากกว่าในกระแสเลือด โดยจะให้แถบที่เข้มกว่า ในขณะที่อีกการศึกษาพบว่าความไวในการทดสอบด้วยน้ำนมด้วยวิธี PCR จะต่ำกว่าการทดสอบด้วยตัวอย่างเลือด (Reina *et al.*, 2009b) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาเทคนิคขั้นสูงทาง PCR เช่น nested PCR (Barlough *et al.*, 1994) และ real-time PCR (Ravazzolo *et al.*, 2006) เพื่อช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อ

นอกจากนี้ยังมีวิธีต่างๆ ที่สามารถตรวจหาแอนติเจนในตัวอย่างเนื้อเยื่อที่ติดเชื้อ รวมทั้งเซลล์เพาะเลี้ยงที่ติดเชื้อได้ เช่น Immunohistochemistry หรือ Immunofluorescence อย่างไรก็ตามวิธีเหล่านี้ไม่เหมาะกับการใช้ตรวจเบื้องต้นเนื่องจากมีราคาสูง และอาจตรวจไม่พบการติดเชื้อ เพราะในเนื้อเยื่อที่ติดเชื้ออาจมีเชื้ออยู่จำนวนไม่มากหรืออาจไม่มีเชื้ออยู่เลย (Zink *et al.*, 1987; Reina *et al.*, 2009)

Adams *et al.* (1980b) แนะนำว่าการตรวจหาแอนติเจนควรทำในแพะที่ยังไม่แสดงอาการ เพราะแพะที่แสดงอาการแล้วมักตรวจไม่พบแอนติเจน ในขณะที่ Clavijo and Thorsen (1996a) พบว่าในแพะที่ติดเชื้อแต่ไม่แสดงอาการจำนวน monocyte ที่ติดเชื้อจะต่ำ จึงตรวจไม่พบการติดเชื้อ เมื่อใช้ mononuclear cell จากเลือดเป็นตัวอย่าง

การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

พบความผิดปกติของอวัยวะเป้าหมายของเชื้อ ได้แก่ ข้อ ระบบประสาท ระบบทางเดินหายใจ และเต้านม ดังนี้

- ข้อ สามารถพบรอยโรคบริเวณข้อได้ตั้งแต่วันที่ 3 ของการติดเชื้อ จะมีการอักเสบและบวมจากการแทรกของเซลล์อักเสบเข้าสู่ joint capsule, tendon sheath และ bursa โดยเป็นการอักเสบแบบไม่มีหนอง (Adams *et al.*, 1980b; Cork and Narayan, 1980; Contreras *et al.*, 1998) synovial cell มีการเพิ่มจำนวนมากผิดปกติ synovial villi มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีจำนวนมากขึ้น ยาวยื่นเข้าไปในพื้นที่ว่างของข้อ (joint space) มี lymphocyte และ plasma cell สะสมรอบหลอดเลือด มีเลือดมาสะสมใน subsynovial vessel เกิดการพอกของแร่ธาตุในบริเวณที่มีเซลล์อักเสบเข้ามาแทรก มีเส้น fibrin ในน้ำไขข้อ ซึ่งมักจะไปยึดติดกับเยื่อหุ้มข้อและกระดูกอ่อนบริเวณข้อ พบชิ้นส่วนของเยื่อหุ้มข้ออยู่ในน้ำไขข้อ เมื่อพัฒนาการของรอยโรครุนแรงมากขึ้นจะพบการเสื่อมของเนื้อเยื่อต่างๆ ที่อยู่บริเวณข้อ (Crawford *et al.*, 1980a; Crawford *et al.*, 1980b; Dawson *et al.*, 1983; Ellis *et al.*, 1983a; Gonzalez *et al.*, 1987)

- ระบบประสาท พบรอยโรคได้บ่อยที่ไขสันหลังส่วน cervical และ lumbosacral (Cork *et al.*, 1974) และมักจะอยู่ที่ white matter โดยเฉพาะบริเวณ periventricular ซึ่งจะเริ่มมีความผิดปกติเกิดขึ้นก่อน โดยมีการสะสมของ mononuclear cell รอบหลอดเลือด ร่วมกับการถูกทำลายของ myelin พบ reactive astrocytosis และการสะสมของ gitter cell ใน white matter รอบรอยโรค

บริเวณหลอดเลือด ในกรณีพื้นฐานจะมีการทำลายที่มากและเป็นบริเวณกว้าง (Cork *et al.*, 1974; Cork and Narayan, 1980; Crawford *et al.*, 1980b; Gonzalez *et al.*, 1987)

3. ระบบทางเดินหายใจ ปอดมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและเนื้อแน่นขึ้น interalveolar septa จะหนาตัวขึ้น โดยพบลักษณะ mononuclear interstitial pneumonia ร่วมกับ lymphoreticular hyperplasia เซลล์กล้ามเนื้อเรียบเพิ่มจำนวนมากผิดปกติ มี serous exudate อยู่ภายในระบบ บริเวณหลอดเลือดและหลอดลมมี focal nodule ที่ประกอบไปด้วย lymphocyte มีเลือดคั่งในหลอดเลือดบริเวณ interalveolar septa ในลูกแพะอาจพบ fibrinous pleuritis มักพบความผิดปกติดังกล่าวในปอดส่วน caudal และ cranioventral lobe (Cork and Narayan, 1980; Dawson *et al.*, 1983; Al-Ani and Vestweber, 1984a; Gonzalez *et al.*, 1987; Ellis *et al.*, 1988; Contreras *et al.*, 1998)

4. เต้านม รอยโรคที่เต้านมประกอบด้วย follicular lymphoid hyperplasia รอบ lactiferous duct มี mononuclear cell แทรกบริเวณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และมีการเกิด fibrosis ของเนื้อเยื่อเต้านม (Gonzalez *et al.*, 1987; Lerondelle *et al.*, 1995; Contreras *et al.*, 1998)

นอกจากพบความผิดปกติที่อวัยวะเป้าหมายของเชื้อแล้ว ยังสามารถพบรอยโรคได้ที่ส่วนอื่นๆ ของร่างกาย เช่น ที่ไตพบ glomerulonephritis โดยมีการหนาตัวขึ้นของ Bowman's capsule basement membrane มี amorphous material และ homogenous protein ภายใน glomeruli มีการเสื่อมและเกิดเนื้อตายทั้งในส่วน cortex และ medulla ร่วมกับมี multifocal lymphoid cell infiltration ที่เนื้อเยื่อ interstitial และรอบหลอดเลือด ที่กรวยไตมี subepithelial lymphocytic accumulation (Crawford *et al.*, 1980b; Dawson *et al.*, 1983; Grewal *et al.*, 1986; Gonzalez *et al.*, 1987) มี amyloid สะสมที่ renal glomeruli ม้าม และ hepatic sinusoid (Crawford *et al.*, 1980b) ตับ กล้ามเนื้อ ม้ามและต่อมน้ำเหลืองเกิด lymphoid hyperplasia ต่อมน้ำเหลืองโตและมีเลือดคั่ง (Gonzalez *et al.*, 1987) มี lymphocyte แทรกในเนื้อเยื่อของลำไส้ (Zink *et al.*, 1990) อาจมี monocyte และ plasma cell แทรกรอบหลอดเลือดของเยื่อหุ้มหัวใจ (Adams *et al.*, 1980b) ในแพะที่ติดเชื้อมาเป็นเวลานานจะเกิดเนื้อตายและมีแร่ธาตุมาเกาะที่กล้ามเนื้อเฉพาะจุด ซึ่งพบมากในกล้ามเนื้อ quadriceps และ biceps femoris (Crawford *et al.*, 1980b) กล้ามเนื้อขาที่ไม่ได้ใช้งานจะเกิดการฝ่อลีบ (Cork *et al.*, 1974) พบการอักเสบของหลอดเลือด หลังจากนั้นจะมีแคลเซียมมาเกาะที่บริเวณชั้น subintima และชั้นในของ media อาจพบการเสื่อมที่หลอดเลือดแดงหลัก (Crawford *et al.*, 1980b)

การตรวจทางโลหิตวิทยาและชีวเคมีของเลือด

ไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดในแพะที่ติดเชื้อ อาจมีภาวะโลหิตจางอย่างอ่อนและ monocytosis ปานกลาง (Crawford and Adams, 1981) แพะที่ติดเชื้อจะมีเปอร์เซ็นต์ lymphocyte สูงกว่าแพะปกติ แต่ปริมาณของ lymphocyte ยังคงอยู่ในช่วงปกติ แต่ในกรณีติดเชื้อเรื้อรังจะพบว่า lymphocyte ต่ำ ความเข้มข้นของ alkaline phosphatase ในแพะที่ติดเชื้อจะสูงกว่าแพะปกติ และแพะที่ติดเชื้อจะมี tumor necrosis factor- α เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดรอยโรคขึ้น นอกจากนี้การติดเชื้อยังอาจเป็นเหตุให้มีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ Gamma glutamyl transpeptidase ด้วย (Al-Ani and Vestweber, 1984f; Mdurvwa et al., 1994) สำหรับในลูกแพะที่มีอาการในระบบประสาท ค่าทางโลหิตวิทยา ชีวเคมีและแร่ธาตุในเลือดจะอยู่ในระดับปกติ แต่อาจพบภาวะโลหิตจางได้เนื่องจากการขาดอาหาร (Cork et al., 1974)

การตรวจน้ำไขข้อ

ลักษณะของน้ำไขข้อของแพะที่ติดเชื้อ CAEV จะขึ้นอยู่กับระยะของภาวะข้ออักเสบที่เกิดขึ้น โดยในกรณีที่มีการอักเสบไม่มากนัก้ำไขข้อจะใส มีปริมาณและจำนวนเซลล์ไม่สูงมากนัก ส่วนในกรณีที่มีการอักเสบรุนแรง น้ำไขข้อจะมีสีน้ำตาลถึงแดง ความหนืดต่ำ ความเข้มข้นของโปรตีนต่ำ จำนวนเซลล์ในน้ำไขข้อของแพะที่ติดเชื้อจะสูงกว่าแพะปกติ แต่จะไม่สัมพันธ์กับความรุนแรงของรอยโรค โดยเซลล์ส่วนใหญ่ที่พบเป็น mononuclear cell และ 60-70% ของเซลล์ที่พบเป็น macrophage ขนาดใหญ่ที่มีช่องว่างอยู่ภายใน (large foamy macrophage) (Crawford and Adams, 1981; Woodard et al., 1982; Gonzalez et al., 1987; Cheevers et al., 1991) นอกจากนี้ตัวอย่างน้ำไขข้อยังสามารถนำไปวินิจฉัยโดยการเพาะแยกเชื้อได้ (Cheever et al., 1991)

การตรวจน้ำสมองและไขสันหลัง

จะพบเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงจำนวนมาก โดยเม็ดเลือดขาวที่พบส่วนใหญ่เป็น lymphocyte (Cork et al., 1974; Crawford and Adams, 1981)

การตรวจทางรังสีวินิจฉัย

ในช่วงแรกจะพบเพียงการบวมของเนื้อเยื่อบริเวณข้อ เมื่ออาการรุนแรงขึ้นจะพบการพอกของแร่ธาตุในเนื้อเยื่อบริเวณข้อ การตรวจทางรังสีวินิจฉัยสามารถช่วยในการประเมินระดับความรุนแรงของความผิดปกติที่เกิดขึ้นบริเวณข้อได้ (Crawford and Adams, 1981; Woodard *et al.*, 1982; Gonzalez *et al.*, 1987)

การรักษา (Treatment)

ไม่มีการรักษาที่เฉพาะเจาะจงสำหรับแพะที่ติดเชื้อ CAEV ไม่ว่าแพะจะแสดงอาการในรูปแบบใดก็ตาม ทำได้เพียงรักษาแบบประคองอาการ สำหรับแพะที่แสดงอาการข้ออักเสบสามารถช่วยได้โดยตัดแต่งกีบเป็นประจำให้อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการและจัดให้แพะสามารถกินได้อย่างสะดวก จัดการทุ่งหญ้าและบริเวณที่สัตว์นอนให้เหมาะสมเพื่อป้องกันการบาดเจ็บ ให้อาหารการอักเสบและความเจ็บปวด เช่น phenylbutazone 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละครั้ง หรือ aspirin 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม วันละ 2 ครั้ง และอาจให้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน ส่วนแพะที่มีอาการรุนแรงอาจช่วยทำให้ตายอย่างสงบ (Crawford and Adams, 1981; Al-Ani and Vestweber, 1984a; Smith and Sherman, 1994; Reilly *et al.*, 2002)

การควบคุมและป้องกัน (Prevention and control)

การควบคุมการติดเชื้อควรเน้นการป้องกันการติดเชื้อใหม่เป็นหลัก เนื่องจากการกำจัดโรคโดยการทดสอบและคัดทิ้งจะก่อให้เกิดความสูญเสียทางพันธุกรรมและทางเศรษฐกิจอย่างมาก แม้ว่าจะเป็นวิธีการที่ได้ผลดี (Adams *et al.*, 1983a) การป้องกันการติดเชื้อที่สำคัญคือ ป้องกันการติดเชื้อในลูกแพะที่เกิดขึ้นมากที่สุด (Al-Qudah *et al.*, 2006) ซึ่งจะต้องปรับเปลี่ยนวิถีเลี้ยงลูกแพะโดยแยกลูกแพะทุกตัวออกจากแม่แพะทันทีที่เกิดก่อนที่จะถูกแม่เลีย และไม่ให้สัมผัสกับสิ่งคัดหลั่งจากระบบสืบพันธุ์ของแม่แพะ (Ellis *et al.*, 1983b; MacKenzie *et al.*, 1987) เพื่อให้สะดวกต่อการจัดการขณะคลอด อาจทำการเหนี่ยวนำการคลอดด้วยพรอสตาแกลนดิน ($\text{prostaglandin F}_2\alpha$) (Smith and Sherman, 1994) นมน้ำเหลืองและนมที่จะให้แก่ลูกแพะจะต้องผ่านการฆ่าเชื้อโดยการให้ความร้อน สำหรับนมน้ำเหลืองควรผ่านความร้อนที่ 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งจะทำให้ปริมาณเชื้อในนมน้ำเหลืองลดลงมากกว่า 10^7 TCID₅₀ เชื้อที่เหลืออยู่จะไม่เพียงพอที่จะก่อให้เกิดการติดเชื้อในลูกแพะ โดยที่สารที่มีความสำคัญสำหรับลูกแพะ รวมถึงแอนติบอดีต่อเชื้อ CAEV ยังคง

อยู่ และหากใช้ไม่หมดยังสามารถแช่แข็งเก็บไว้ได้ (Adams *et al.*, 1983a; MacKenzie *et al.*, 1987; Smith and Sherman, 1994) อย่างไรก็ตาม Fernandez *et al.* (2006) ได้ทดลองนำนม น้ำเหลืองผ่านความร้อน 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่าลูกแพะที่ได้รับนม น้ำเหลืองดังกล่าวมีระดับภูมิโนโกลบูลินจีและการตอบสนองด้วยระบบภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ต่ำกว่าลูกแพะที่ได้รับนม น้ำเหลืองที่ไม่ผ่านความร้อน แต่ก็ไม่มีผลต่อสุขภาพร่างกายของลูกแพะ ในกรณีไม่สะดวกในการทำการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนอาจใช้นม น้ำเหลืองของโคแทน แต่ลูกแพะที่ได้รับนม น้ำเหลืองของโคอาจมีระดับแอนติบอดีในซีรัมต่ำกว่าปกติ ในนม น้ำเหลืองของโคยังอาจมีเชื้อชนิดอื่น เช่น *Mycobacterium paratuberculosis* ที่สามารถติดต่อมาสู่แพะได้ นอกจากนี้ ลูกแพะที่ได้รับนม น้ำเหลืองโคอาจเกิดการทำลายเม็ดเลือดแดงจนเกิดภาวะโลหิตจางได้ (Smith and Sherman, 1994) ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ทดแทนนม น้ำเหลืองซึ่งสามารถใช้ได้ แต่อาจทำให้ระดับแอนติบอดีในลูกแพะไม่สูงเพียงพอ จึงทำให้ลูกแพะไวต่อการติดเชื้อ หลังสิ้นสุดช่วงที่ลูกแพะต้องการนม น้ำเหลืองแนะนำให้เปลี่ยนมาให้นมแพะที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ ที่อุณหภูมิ 73.9 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หรือนมโคหรือสารทดแทนนมจนกระทั่งหย่านม (MacKenzie *et al.*, 1987; Ellis, 1988; Smith and Sherman, 1994; Hanson *et al.*, 1996) ทั้งนี้ไม่ควรให้นม น้ำเหลืองและนมจากแม่แพะที่ยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อแก่ลูกแพะ แม้ว่าแม่แพะตัวนั้นจะให้ผลต่อการทดสอบทางซีรัม เนื่องจากการทดสอบการติดเชื้อด้วยวิธีต่างๆ มีโอกาสให้ผลที่ผิดพลาดได้ดังได้กล่าวไปข้างต้น

การป้องกันการติดต่อของเชื้อทางการสัมผัสทำได้ โดยการทดสอบทางซีรัมวิทยาเพื่อตรวจหาการติดเชื้อภายในฝูงเป็นประจำทุก 6 เดือน และแยกแพะที่ติดเชื้อออกจากฝูงอย่างน้อย 2 เมตร ภายในโรงเรือนมีการระบายอากาศที่ดี ปรับปรุงวิธีการรีดนม โดยรีดนมแพะที่ไม่ติดเชื้อก่อนแพะที่ติดเชื้อ และหมั่นล้างและฆ่าเชื้ออุปกรณ์รีดนมเพื่อป้องกันการติดต่อผ่านทางเต้านม หลีกเลี่ยงการใช้อุปกรณ์ต่างๆ ที่ปนเปื้อนเลือดร่วมกัน หากไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ต้องทำการฆ่าเชื้อก่อนใช้ทุกครั้ง ด้วยสารกลุ่ม phenol หรือ quaternary ammonium compound รังน้ำและรังอาหารก็จะต้องหมั่นทำความสะอาดและฆ่าเชื้อด้วยเช่นกัน นอกจากนี้การพัฒนาวัคซีนก็เป็นสิ่งสำคัญในการควบคุมโรค (Adams *et al.*, 1983a; East *et al.*, 1987; MacKenzie *et al.*, 1987; Smith and Sherman, 1994; Nord *et al.*, 1998a; Reilly *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตามการใช้วัคซีนอาจไม่ได้ผลในการควบคุมโรค เนื่องจากรอยโรคที่เกิดจากการติดเชื้อเป็นผลมาจากปฏิกิริยาทางภูมิคุ้มกันของร่างกายแพะที่ได้รับวัคซีนจึงแสดงอาการรุนแรงกว่าแพะที่ไม่ได้รับวัคซีน (Reilly, 2002) แต่การให้ antithymocyte กับแพะที่ติดเชื้อในระยะแรกจะช่วยป้องกันการเกิดรอยโรคได้ (Narayan and Cork, 1990) แพะที่นำเข้าจากต่างประเทศจะต้องผ่านการกักและทดสอบโรคก่อนนำเข้าฝูง (Baba *et al.*, 2000) แต่ผลการทดสอบอาจผิดพลาดได้เนื่องจากระยะระหว่างติดเชื้อจนถึงมีการสร้างแอนติบอดี

ในระดับที่ตรวจพบได้ไม่แน่นอน บางตัวอาจนานหลายเดือน จึงควรมีระยะกักโรคนานพอเพื่อลดโอกาสที่จะนำแพะที่ติดเชื้อเข้ามาในประเทศ นอกจากนี้ควรเลือกซื้อแพะจากฝูงที่ไม่มีประวัติการติดเชื้อ CAEV (Smith and Sherman, 1994; Lerondelle *et al.*, 1995)

การทดสอบโรคด้วยวิธีการทางชีววิทยาในแพะที่อายุ 6 เดือนขึ้นไปทุกตัวเป็นประจำจะทำให้ทราบสถานะของฝูง และช่วยประเมินความสำเร็จในการควบคุมโรค (Smith and Sherman, 1994) โดยฝูงแพะที่ให้ผลลบต่อการทดสอบทั้งฝูง 2 ครั้งติดต่อกัน และไม่มีประวัติสัมผัสกับแพะฝูงอื่นเป็นระยะเวลา 1 ปี จะถือว่าปลอดจากการติดเชื้อ CAEV (Adams *et al.*, 1983a) ปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการควบคุมโรค คือ วิธีการทดสอบโรค ซึ่งวิธีการทดสอบที่ใช้ไม่ควรให้ผลลบเทียม (Grewal, 1986)

ความสำคัญทางสาธารณสุข

ปัจจุบันพบว่า มนุษย์สามารถติดเชื้อ CAEV ได้ จากการตรวจพบแอนติบอดีต่อการติดเชื้อด้วยวิธี ELISA จากตัวอย่างเลือด และพบ proviral DNA ของเชื้อจากการตรวจด้วยวิธี PCR บุคคลที่ติดเชื้อจากการได้การถ่ายรับเลือดจากผู้ติดเชื้ออาจแสดงอาการคล้ายคลึงกับแพะที่ติดเชื้อ อย่างไรก็ตาม ภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการติดเชื้อ CAEV จะมีปฏิกิริยาข้ามกับภูมิคุ้มกันที่เกิดจากการติดเชื้อ HIV-1 ดังนั้น การทำให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ CAEV อาจทำให้ผู้ที่ยังไม่ติดเชื้อ HIV-1 มีความต้านทานต่อการติดเชื้อ HIV-1 มากขึ้น ส่วนผู้ที่ติดเชื้อแล้วอาจมีความรุนแรงของโรคลดลง (Douvas *et al.*, 1998; Louie *et al.*, 2003)

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

การศึกษานี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ การศึกษาความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อ CAEV ทั้งรายตัวและรายฟาร์ม รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในแพะที่ติดเชื้อ ซึ่งเป็นการศึกษาแบบ cross-sectional study และการเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะ

1. สัตว์ทดลอง

แพะที่เลี้ยงในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตกของประเทศไทย 7 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา นครปฐม ราชบุรี และกาญจนบุรี รายละเอียดของแพะที่ใช้ในการศึกษาจำแนกตามจังหวัด ชนิดการให้ผลผลิต เพศและอายุ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนแพะที่ใช้ในการศึกษาจำแนกตามจังหวัด ชนิดการให้ผลผลิต เพศและอายุ

	Farm	Goat
Province		
Bangkok	9	84
Nonthaburi	33	242
Pathumthani	3	30
Ayuthaya	9	90
Nakornpathom	32	313
Rachaburi	6	55
Kanchanaburi	58	519
Type		
Dairy goat	50	419
Meat goat	100	914
Sex		
Female	-	1,146
Male	-	187
Age		
Adult	-	782
Young	-	551
Total	150	1,333

2. การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกัน

การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัส CAEV ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป CHEKIT-CAEV/MVV ของ IDEXX Laboratories, Liebefeld, Bern, Switzerland ซึ่งเป็นชุดทดสอบที่ใช้สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ CAEV และ Maedi-visna virus (MVV) โดยใช้หลักการ indirect ELISA ชุดทดสอบดังกล่าวเคลือบด้วยแอนติเจนของ MVV ที่เป็นเชื้อในกลุ่ม lentivirus ที่ใกล้เคียงกับเชื้อ CAEV แต่ก่อโรคในแกะ และสามารถเกิดปฏิกิริยาข้ามกับแอนติบอดีที่เกิดจากการติดเชื้อ CAEV ได้ (Ellis *et al.*, 1983a; Gazit *et al.*, 1983) ชุดทดสอบที่ใช้นี้มีความไวต่อการทดสอบโดยใช้ตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา 100% หากใช้ตัวอย่างน้ำนมจะมีความไว 97.1% และมีความจำเพาะจากการทดสอบโดยใช้ตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา 99.8%

3. การตรวจทางโลหิตวิทยา

ตรวจหาค่าเม็ดเลือดขาว (White Blood Cell; WBC) เม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell; RBC) ฮีโมโกลบิน (Hemoglobin; Hb) ความเข้มข้นของเลือด (Hematocrit; Hct) ขนาดเซลล์เม็ดเลือดแดง (Mean Corpuscular Volume; MCV) ปริมาณของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (Mean Corpuscular Hemoglobin; MCH) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดง (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration; MCHC) การกระจายตัวของขนาดเม็ดเลือดแดง (Red Cell Distribution Width; RDW) และเม็ดเลือดขาวแยกชนิด ด้วยเครื่องตรวจอัตโนมัติ (Abacus Junior Vet, U.S. Submit Cooperation Oversea) ความเข้มข้นของโปรตีนในน้ำเลือดตรวจด้วยเครื่อง refractometer

4. การเพาะเลี้ยงเซลล์

เก็บเนื้อเยื่อบริเวณข้อเข่าข้อศอกด้วยวิธีการปลอดเชื้อจากแพะเนื้อ เพศผู้ อายุประมาณ 5 เดือน ซึ่งให้ผลต่อการทดสอบทางซีรัมต่อการติดเชื้อ CAEV ที่ได้ขาทั้ง 4 ข้างมาจากโรงฆ่าสัตว์แห่งหนึ่งในจังหวัดนครปฐม ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

วิธีการ

การศึกษาที่ 1 การศึกษาความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อ CAEV ทั้งรายตัวและรายฟาร์ม และการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในแพะที่ติดเชื้อ

1. การสุ่มเก็บตัวอย่าง

1.1 เลือกฟาร์มแพะในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตกของประเทศไทย โดยแบ่งเป็นฟาร์มแพะนม 50 ฟาร์ม และฟาร์มแพะเนื้อ 100 ฟาร์ม โดยการสุ่มตัวอย่างแบบอาศัยความสะดวก (convenient sampling)

1.2 สุ่มเลือกแพะในฟาร์มที่มีอายุตั้งแต่ 3 เดือนขึ้นไป ฟาร์มละ 10 ตัว บันทึกข้อมูลช่วงอายุ เพศ และสายพันธุ์ รวมทั้งชื่อหรือเบอร์หูของแพะแต่ละตัว (ดำเนินการระหว่างเดือนพฤษภาคม 2551 ถึงกุมภาพันธ์ 2552) และเก็บตัวอย่างเลือดจากแพะทั้ง 10 ตัว ตัวละประมาณ 6 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่ไม่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือด

1.3 สุ่มเก็บตัวอย่างเลือดจากแพะ 4 ใน 10 ตัวที่สุ่มเลือกในตอนแรกอีก 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA)

1.4 นำตัวอย่างในหลอดที่ไม่ได้ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือดไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เพื่อแยกซีรัม และเก็บซีรัมที่ปั่นแยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบต่อไป

1.5 ตัวอย่างเลือดส่วนที่ใส่สารป้องกันการแข็งตัวของเลือดเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส รอนำไปตรวจทางโลหิตวิทยา

2. การตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกัน

2.1 ตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสซิกาและสมองอักเสบในแพะแยกตามรายตัวด้วยวิธี indirect ELISA โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป The CHEKIT-CAEV/MVV ของ IDEXX Laboratories ดำเนินการทดสอบและแปลผลตามขั้นตอนที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำ

2.2 ผลที่ได้จากการทดสอบจะแบ่งเป็น ผลบวก ผลสงสัย และผลลบ สำหรับตัวอย่างที่ให้ผลสงสัยจากการทดสอบในครั้งแรกจะถูกทดสอบซ้ำอีกครั้ง หากให้ผลเป็นสงสัยอีกครั้งจึงจะรายงานผลเป็นสงสัย

3. การตรวจทางโลหิตวิทยา

3.1 ส่งตรวจทางโลหิตวิทยา ณ ห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยา โรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ภายใน 48 ชั่วโมงหลังจากเก็บตัวอย่าง

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

4.1 วิเคราะห์ข้อมูลค่าโลหิตวิทยา และความชุกของพยาธิและรายตัวโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา

4.2 เปรียบเทียบการพบแอนติบอดีต่อการติดเชื้อระหว่างชนิดการให้ผลผลิต เพศและอายุของแพะ โดยใช้ Pearson Chi-Square Test และ Odds Ratio กำหนดนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $P < 0.05$

4.3 เปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาของแพะกลุ่มที่ให้ผลบวกและกลุ่มที่ให้ผลลบต่อการตรวจการติดเชื้อไวรัสซิกาและสมองอักเสบในแพะทางซีรัมโดยใช้ Student's t-test กำหนดนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ $P < 0.05$

การศึกษาที่ 2 การเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะ

1. การเพาะเลี้ยงเซลล์

โดยประยุกต์จากขั้นตอนของ Upragarin (2005) ดังนี้

1.1 เก็บเนื้อเยื่อบริเวณข้อของแพะจากข้อขาของแพะที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ ทำการย่อยเนื้อเยื่อที่ได้ด้วย collagenase type I (Gibco BRL) ใน RPMI 1640 (Gibco BRL) ที่มี fetal calves serum (FCS) 3% ปริมาตรประมาณ 10 เท่าของชิ้นเนื้อเยื่อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.2 นำส่วนที่เป็นของเหลวที่ได้จากการย่อยใส่ลงในหลอดและปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นดูดส่วนใสทิ้ง แล้วล้างด้วย PBS นำไปปั่นด้วยความเร็ว 1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.3 นำเซลล์ที่ได้ไปเพาะเลี้ยงใน RPMI 1640 ที่มี glutamine (2.05 mM), penicillin (100 unit/ml), streptomycin (100 µg/ml), sodium pyruvate 2 mM, 2-mercaptoethanol 50 µM และ FCS 10% ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% คาร์บอนไดออกไซด์

1.4 เปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ตามความเหมาะสมประมาณสัปดาห์ละ 2 ครั้ง และทำการถ่ายเลี้ยงเซลล์เมื่อเซลล์เจริญเต็มภาชนะ

2. การแช่แข็งเซลล์

2.1 อาหารเลี้ยงเซลล์สำหรับแช่แข็งประกอบด้วย อาหารเลี้ยงเซลล์ปกติ 5 มิลลิลิตร FCS 4 มิลลิลิตร และ dimethyl sulfoxide (DMSO) เพื่อทำหน้าที่เป็น cryopreservative 1 มิลลิลิตร

2.2 ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ลงในเซลล์ที่เตรียมไว้ ผสมให้เข้ากันแล้วดูดใส่หลอดสำหรับแช่แข็งหลอดละ 1.5 มิลลิลิตร นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปเก็บในถังไนโตรเจนเหลว

3. การพิสูจน์ชนิดของเซลล์

3.1 เซลล์ชนิด fibroblast ทดสอบหา vimentin ซึ่งเป็น intermediate filament ของโปรตีนในเซลล์ชนิด fibroblast โดยมีขั้นตอนการเตรียมสไลด์ดังนี้

3.1.1 ทำการถ่ายเลี้ยงเซลล์ passage ที่ 8 จาก flask มาเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงที่มีสไลด์วางอยู่ภายใน โดยให้มีปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร และพยายามให้เซลล์อยู่บนสไลด์

3.1.2 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 2 วัน เซลล์จะเจริญประมาณ 50% ของพื้นผิวสไลด์

3.1.3 ล้างสไลด์ที่ได้ด้วย PBS จากนั้นตรึงด้วย 10% ฟอร์มาลิน เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วย PBS อีกรอบ จึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.1.4 นำสไลด์ไปเข้าขั้นตอนการทดสอบด้วยวิธี immunocytochemistry โดยใช้ anti-vimentin ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาพยาธิวิทยาภาควิชา วิทยาลัยแพทยศาสตร์กรุงเทพมหานครและวชิรพยาบาล โดยใช้เนื้อเยื่อจากเนื้องอกของคนไข้ที่เข้ารับการรักษาที่วชิรพยาบาลที่เคยให้ผลบวกต่อการทดสอบด้วย anti-vimentin เป็นตัวควบคุมบวก

3.2 เซลล์ชนิด macrophage ทดสอบความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอมของเซลล์ (phagocytic activity) โดยใช้ผงคาร์บอนเป็นตัวทดสอบ และใช้เซลล์ macrophage เป็นตัวควบคุมบวก ตามขั้นตอนของ Upragarin (2005) ดังนี้

3.2.1 ละลายผงคาร์บอนลงในอาหารเลี้ยงเซลล์ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.2 ล้างเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้ด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ไม่มีซีรัม 3 ครั้ง

3.2.3 นำเซลล์ที่ล้างแล้วใส่ร่วมกับสารละลายคาร์บอนที่เตรียมไว้ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที

3.2.4 ดูดส่วนที่เป็นของเหลวทิ้ง และล้างเซลล์ด้วย PBS 5 ครั้ง แล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

ผลและวิจารณ์

ผล

ผลจากการศึกษาที่ 1 การศึกษาความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อ CAEV ทั้งรายตัวและรายฟาร์ม และการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในแพะที่ติดเชื้อ

1. ความชุกทางซีรัม

จากตัวอย่างซีรัมจากแพะในพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตกของประเทศไทย 7 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา นครปฐม ราชบุรี และกาญจนบุรี รวมทั้งสิ้น 1,333 ตัวอย่าง แบ่งเป็นตัวอย่างจากแพะนม 419 ตัวอย่าง จาก 50 ฟาร์ม และตัวอย่างจากแพะเนื้อ 914 ตัวอย่าง จาก 100 ฟาร์ม ผลการทดสอบทางซีรัมรายตัวรวม และจำแนกตามชนิดการให้ผลผลิต เพศและช่วงอายุของแพะแสดงดังตารางที่ 2 เมื่อพิจารณาความชุกรายฟาร์มพบว่าความชุกรายฟาร์มรวมแพะนมและแพะเนื้อเป็น 45.33% (68/150) โดยความชุกรายฟาร์มในแพะนมและแพะเนื้อเป็น 54% (27/50) และ 41% (41/100) ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ความชุกในแต่ละฟาร์มมีตั้งแต่ 0 ถึง 90% โดยในแพะเนื้อมีความชุกในแต่ละฟาร์มตั้งแต่ 0 ถึง 60% ส่วนในแพะนมมีความชุกในแต่ละฟาร์มตั้งแต่ 0 ถึง 90% (ภาพที่ 3) ส่วนผลการทดสอบทางซีรัมรายฟาร์มและรายตัวจำแนกตามจังหวัดแสดงดังตารางที่ 4

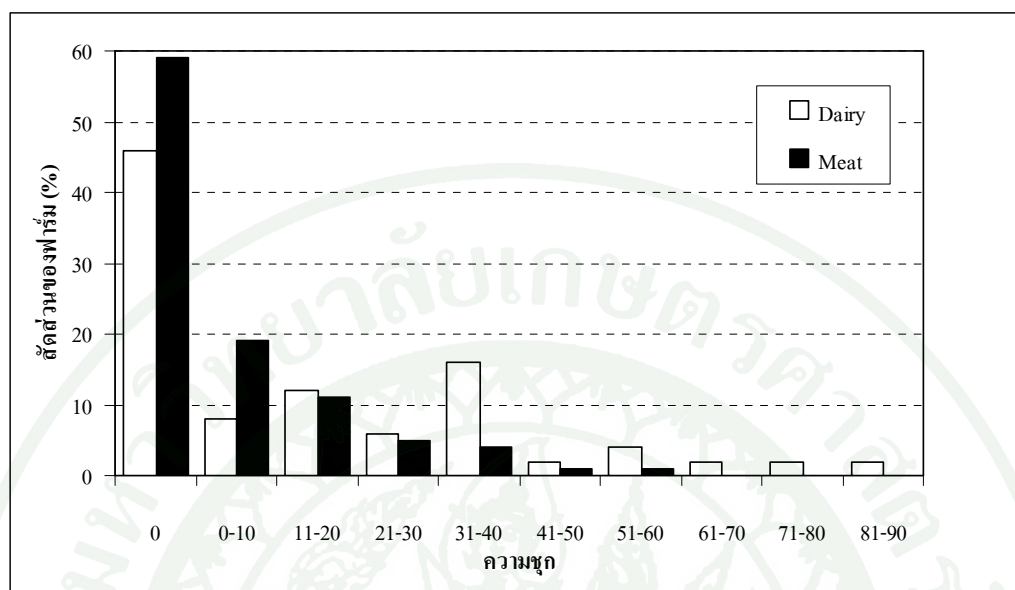
ตารางที่ 2 ผลการทดสอบการติดเชื้อ CAEV ทางซีรัมด้วยชุดทดสอบ ELISA รายตัว

	Negative	Positive	Suspect ¹	Prevalence
Type				
Dairy goat	327	89	3	21.24
Meat goat	818	74	22	8.10
Sex				
Female	975	149	22	13.00
Male	170	14	3	7.49
Age				
Adult	638	123	21	15.73
Young	507	40	4	7.26
Total	1,145	163	25	12.23

¹ ตัวอย่างที่ให้ผลสงสัยต่อการทดสอบ 2 ครั้ง

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบการติดเชื้อ CAEV ทางซีรัมด้วยชุดทดสอบ ELISA รายฟาร์ม

Type	Positive	Negative	Prevalence
Dairy herd	27	23	54.00
Meat herd	41	59	41.00
Total	68	82	45.33



ภาพที่ 3 สัดส่วนฟาร์มที่มีความชุกในแต่ละช่วง

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบการติดเชื้อ CAEV ทางซีรัมรายฟาร์มและรายตัวจำแนกตามจังหวัด

Province	Farm	Positive farm (%)	Goat	Positive goat (%)
Bangkok	9	4 (44.44)	84	8 (9.52)
Nonthaburi	33	17 (51.52)	242	46 (19.01)
Pathumthani	3	1 (33.33)	30	7 (23.33)
Ayuthaya	9	6 (66.67)	90	19 (21.11)
Nakornpathom	32	11 (34.38)	313	30 (9.58)
Rachaburi	6	3 (50.00)	55	5 (9.09)
Kanchanaburi	58	26 (44.83)	519	48 (9.25)
Total	150	68 (45.33)	1,333	163 (12.23)

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างชนิดการให้ผลผลิต เพศและช่วงอายุของแพะกับผลที่ได้จากการทดสอบทางซีรัมโดยใช้ Pearson Chi-Square พบว่าทั้งชนิดการให้ผลผลิต เพศ และช่วงอายุของแพะมีความสัมพันธ์กับผลการทดสอบทางซีรัม ($P < 0.05$) และเมื่อคำนวณค่า Odd ratio จะพบว่าแพะนมมีโอกาสให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 3.01 เท่าของแพะเนื้อ แพะเพศเมียมีโอกาสให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 1.86 เท่าของเพศผู้ และแพะพ่อแม่พันธุ์มีโอกาสให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 2.44 เท่าของลูกแพะและแพะรุ่น ($P < 0.05$) (ตารางที่ 5) เมื่อพิจารณาปัจจัยเสี่ยงแยกตามชนิดการให้ผลผลิตของแพะจะพบว่า อายุไม่มีความสัมพันธ์กับการให้ผลบวกต่อการทดสอบในแพะนม แต่มีความสัมพันธ์ในแพะเนื้อ โดยแพะเนื้อพ่อแม่พันธุ์มีโอกาสให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 2.60 เท่าของลูกแพะและแพะรุ่น ($P < 0.05$) (ตารางที่ 6) ในขณะที่เพศมีความสัมพันธ์กับการให้ผลบวกต่อการทดสอบในแพะนมแต่ไม่มีความสัมพันธ์แพะเนื้อ โดยแพะนมเพศเมียมีโอกาสให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 4.42 เท่าของเพศผู้ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 5 ปัจจัยที่มีผลต่อผลการทดสอบทางซีรัม

Risk factor	Serological result		Odd ratio	95% Confidence interval
	Positive	Negative		
Type				
Dairy goat	89	327	3.01	2.16-4.20
Meat goat	74	818	1.00	
Sex				
Female	149	975	1.86	1.05-3.29
Male	14	170	1.00	
Age				
Adult	123	638	2.44	1.68-3.56
Young	40	507	1.00	

ตารางที่ 6 ปัจจัยด้านอายุที่มีผลต่อผลการทดสอบทางซีรัมในแพะแต่ละชนิด

	Serological result		Odds ratio	95% Confidence interval
	Positive	Negative		
Dairy goat				
Adult	66	223	1.41	0.83-2.42
Young	22	105	1	
Meat goat				
Adult	54	417	2.60	1.53-4.42
Young	20	401	1	

ตารางที่ 7 ปัจจัยด้านเพศที่มีผลต่อผลการทดสอบทางซีรัมในแพะแต่ละชนิด

	Serological result		Odds ratio	95% Confidence interval
	Positive	Negative		
Dairy goat				
Female	83	259	4.42	1.73-11.36
Male	5	69	1	
Meat goat				
Female	66	716	1.18	0.55-2.52
Male	8	102	1	

2. การเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในแพะที่ติดเชื้อ CAEV

จากตัวอย่างเลือดในสารป้องกันการแข็งตัวของเลือดชนิด EDTA รวมทั้งสิ้น 573 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นตัวอย่างจากแพะนม 174 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากแพะเนื้อ 399 ตัวอย่าง มีค่าสูงสุด ค่าต่ำสุด ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าทางโลหิตวิทยาต่างๆ ดังตารางที่ 8 และในแพะที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อการทดสอบมีค่าทางโลหิตวิทยาที่แตกต่างกันดังตารางที่ 9 ถึงตารางที่ 13 และตัวอย่างทั้งหมดยังได้รับการตรวจหาพยาธิในเลือด ซึ่งไม่พบในตัวอย่างใดเลย

ตารางที่ 8 ค่าทางโลหิตวิทยาของแพะที่ใช้ในการศึกษา

Parameters	Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation
RBC (10^6 cells/ μ l)	3.98	19.95	14.20	2.80
Hb (g/dL)	2.00	16.90	7.63	1.82
Hct (%)	6.50	33.50	20.62	4.32
MCV (fL)	8.00	21.00	14.57	1.75
MCH (pg)	3.40	7.40	5.35	0.62
MCHC (g/dL)	29.50	43.90	36.83	2.40
RDW (%)	27.80	49.20	38.73	2.84
WBC (10^9 /L)	830	40,070	14,512	5,060
Band neutrophil (%)	0	6	0.10	0.52
Band neutrophil (10^9 /L)	0	1,040	14	85
Segment neutrophil (%)	6	84	42.04	16.58
Segment neutrophil(10^9 /L)	365	20,035	6,040	3,183
Lymphocyte (%)	9	89	47.52	17.23
Lymphocyte (10^9 /L)	349	26,696	6,926	3,773
Monocyte (%)	0	18	4.76	2.99
Monocyte (10^9 /L)	0	3,598	692	514
Eosinophil (%)	0	27	5.38	5.37
Eosinophil (10^9 /L)	0	7,244	801	936
Plasma protein (g/dL)	4.20	9.40	7.05	0.76

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าโลหิตวิทยาในแพะที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อการทดสอบทางซีรัม

Parameters	Seronegative (n = 499)	Seropositive (n = 62)	P-value	Normal range ¹
RBC (10 ⁶ cells/ μ l)	14.31 (2.83)	13.46 (2.44)	0.024*	8.00-18.00
Hb (g/dL)	7.67 (1.83)	7.45 (1.83)	0.379	8.00-12.00
Hct (%)	20.68 (4.31)	20.34 (4.48)	0.562	22.00-38.00
MCV (fL)	14.50 (1.75)	15.08 (1.68)	0.015*	16.00-25.00
MCH (pg)	5.34 (0.62)	5.51 (0.64)	0.040*	5.20-8.00
MCHC (g/dL)	36.90 (2.38)	36.52 (2.55)	0.245	30.00-36.00
RDW (%)	38.91 (2.85)	37.49 (2.25)	< 0.001*	
WBC (cell/ μ l)	14,727 (5175)	12,988 (4065)	0.011*	4,000-13,000
Band neutrophil (%)	0.10 (0.54)	0.13 (0.42)	0.707	0
Band neutrophil (cell/ μ l)	14 (89)	14 (48)	0.993	0
Segment neutrophil (%)	41.32 (16.50)	46.31 (15.89)	0.025*	30.00-48.00
Segment neutrophil (cell/ μ l)	6,044 (3,246)	5,902 (2,681)	0.741	1,200-7,200
Lymphocyte (%)	48.29 (17.17)	43.37 (16.25)	0.033*	50.00-70.00
Lymphocyte (cell/ μ l)	7,131 (3,846)	5,641 (2,826)	< 0.001*	2,000-9,000
Monocyte (%)	4.78 (2.97)	4.71 (3.05)	0.870	0.00-4.00
Monocyte (cell/ μ l)	704 (519)	624 (476)	0.253	0-550
Eosinophil (%)	5.31 (5.31)	5.39 (5.71)	0.911	1.00-8.00
Eosinophil (cell/ μ l)	805 (952)	698 (806)	0.397	50-650
Plasma protein (g/dL)	7.00 (0.76)	7.40 (0.69)	< 0.001*	6.0-7.5

¹(Pugh, 2002)

ตารางที่ 10 ค่าโลหิตวิทยาในแพะนมที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัมแยกตามเพศ

Parameters	Seronegative	Seropositive	P-value
RBC (106 cells/ μ l)			
Female (n = 142)	14.72	13.62	0.034*
Male (n = 32)	15.90	14.04	0.439
Hb (g/dL)			
Female	8.64	7.73	0.024*
Male	8.77	7.40	0.487
Hct (%)			
Female	23.00	20.69	0.010*
Male	23.15	20.30	0.514
MCV (fL)			
Female	15.61	15.09	0.164
Male	14.55	14.00	0.765
MCH (pg)			
Female	5.83	5.63	0.155
Male	5.49	5.30	0.804
MCHC (g/dL)			
Female	37.44	37.25	0.696
Male	37.72	36.60	0.672
RDW (%)			
Female	38.05	37.43	0.285
Male	39.96	37.60	0.424
WBC (cell/ μ l)			
Female	13,212	13,380	0.840
Male	13,846	8,820	0.215
Band neutrophil (%)			
Female	0.20	0.18	0.880
Male	0.00	0.00	
Band neutrophil (cell/ μ l)			
Female	29.02	20.85	0.678
Male	0.00	0.00	

ตารางที่ 10 (ต่อ)

Parameters	Seronegative	Seropositive	P-value
Segment neutrophil (%)			
Female	42.65	47.79	0.114
Male	38.48	31.00	0.605
Segment neutrophil (cell/ μ l)			
Female	5,636	6,371	0.215
Male	5,368	2,734	0.334
Lymphocyte (%)			
Female	49.64	43.81	0.045*
Male	54.42	56.00	0.917
Lymphocyte (cell/ μ l)			
Female	6,541	5,918	0.312
Male	7,417	4,939	0.379
Monocyte (%)			
Female	3.55	3.97	0.340
Male	4.35	8.00	0.200
Monocyte (cell/ μ l)			
Female	481	554	0.353
Male	645	706	0.916
Eosinophil (%)			
Female	3.67	4.24	0.549
Male	2.74	5.00	0.352
Eosinophil (cell/ μ l)			
Female	498	516	0.865
Male	416	441	0.955
Plasma protein (g/dL)			
Female	7.41	7.58	0.279
Male	6.90	7.40	0.453

ตารางที่ 11 ค่าทางโลหิตวิทยาในแพะเนื้อที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัมแยกตามเพศ

Parameters	Seronegative	Seropositive	P-value
RBC (106 cells/ μ l)			
Female (n = 332)	13.96	13.03	0.128
Male (n = 55)	14.62	14.59	0.981
Hb (g/dL)			
Female	7.22	7.00	0.496
Male	7.62	7.92	0.732
Hct (%)			
Female	19.69	19.75	0.937
Male	20.24	21.08	0.710
MCV (fL)			
Female	14.23	15.25	0.002*
Male	13.76	14.25	0.588
MCH (pg)			
Female	5.17	5.36	0.047*
Male	5.17	5.42	0.444
MCHC (g/dL)			
Female	36.53	35.33	0.015*
Male	37.42	37.58	0.898
RDW (%)			
Female	39.00	37.57	0.014*
Male	39.55	37.48	0.121
WBC (cell/ μ l)			
Female	15,532	12,571	0.009*
Male	13,643	13,308	0.905
Band neutrophil (%)			
Female	0.07	0.08	0.905
Male	0.14	0.00	0.669
Band neutrophil (cell/ μ l)			
Female	9	8	0.948
Male	20	0	0.683

ตารางที่ 11 (ต่อ)

Parameters	Seronegative	Seropositive	P-value
Segment neutrophil (%)			
Female	40.88	45.54	0.182
Male	42.82	42.50	0.973
Segment neutrophil (cell/ μ l)			
Female	6,334	5,362	0.167
Male	5,581	6,075	0.763
Lymphocyte (%)			
Female	47.48	41.33	0.089
Male	46.57	48.75	0.827
Lymphocyte (cell/ μ l)			
Female	7,416	5,229	0.009*
Male	6,494	6,010	0.832
Monocyte (%)			
Female	5.24	5.71	0.481
Male	4.86	4.00	0.587
Monocyte (cell/ μ l)			
Female	795	743	0.648
Male	665	471	0.446
Eosinophil (%)			
Female	6.10	7.08	0.423
Male	5.59	4.75	0.782
Eosinophil (cell/ μ l)			
Female	954	950	0.985
Male	797	752	0.931
Plasma protein (g/dL)			
Female	6.85	7.15	0.043*
Male	7.06	7.45	0.355

ตารางที่ 12 ค่าทางโลหิตวิทยาในแพะนมที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัมแยกตาม
ช่วงอายุ

Parameters	Seronegative	Seropositive	P-value
RBC (10 ⁶ cells/ μ l)			
Adult (n = 115)	14.18	13.20	0.049*
Young (n = 59)	16.25	16.17	0.947
Hb (g/dL)			
Adult	8.50	7.49	0.020*
Young	8.94	9.04	0.912
Hct (%)			
Adult	22.90	20.11	0.004*
Young	23.26	23.94	0.734
MCV (fL)			
Adult	15.99	15.14	0.026*
Young	14.41	14.60	0.822
MCH (pg)			
Adult	5.92	5.63	0.067
Young	5.49	5.52	0.937
MCHC (g/dL)			
Adult	36.98	37.17	0.688
Young	38.33	37.62	0.568
RDW (%)			
Adult	37.22	37.07	0.787
Young	40.47	39.56	0.472
WBC (cell/ μ l)			
Adult	12,823	12,737	0.919
Young	14,196	16,194	0.330
Band neutrophil (%)			
Adult	0.23	0.17	0.700
Young	0.04	0.20	0.463
Band neutrophil (cell/ μ l)			
Adult	33	20	0.569
Young	5	20	0.273

ตารางที่ 12 (ต่อ)

Parameters	Seronegative	Seropositive	P-value
Segment neutrophil (%)			
Adult	46.43	49.69	0.285
Young	34.24	33.40	0.876
Segment neutrophil (cell/ μ l)			
Adult	6,008	6,379	0.581
Young	4,888	5,599	0.522
Lymphocyte (%)			
Adult	45.96	41.59	0.148
Young	58.24	59.20	0.866
Lymphocyte (cell/ μ l)			
Adult	5,826	5,282	0.376
Young	8,182	9,408	0.359
Monocyte (%)			
Adult	3.63	3.83	0.680
Young	3.89	5.60	0.144
Monocyte (cell/ μ l)			
Adult	486	497	0.893
Young	567	916	0.132
Eosinophil (%)			
Adult	3.50	4.72	0.256
Young	3.41	1.60	0.144
Eosinophil (cell/ μ l)			
Adult	449	559	0.327
Young	528	251	0.003*
Plasma protein (g/dL)			
Adult	7.59	7.56	0.863
Young	6.82	7.60	0.008*

ตารางที่ 13 ค่าทางโลหิตวิทยาในแพะเนื้อที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัมแยกตามช่วงอายุ

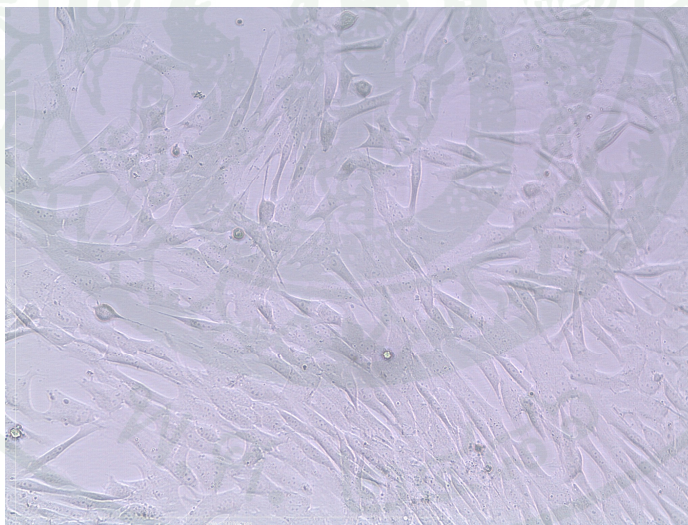
Parameters	Seronegative	Seropositive	P-value
RBC (106 cells/ μ l)			
Adult (n = 209)	13.37	13.12	0.671
Young (n = 178)	14.77	14.06	0.608
Hb (g/dL)			
Adult	7.06	7.06	0.997
Young	7.52	7.55	0.966
Hct (%)			
Adult	19.28	19.86	0.508
Young	20.29	20.42	0.944
MCV (fL)			
Adult	14.53	15.21	0.060
Young	13.78	14.50	0.285
MCH (pg)			
Adult	5.27	5.37	0.342
Young	5.07	5.38	0.166
MCHC (g/dL)			
Adult	36.46	35.45	0.051
Young	36.88	36.85	0.983
RDW (%)			
Adult	38.34	37.29	0.012*
Young	39.86	39.15	0.546
WBC (cell/ μ l)			
Adult	14,152	12,510	0.103
Young	16,445	13,672	0.356
Band neutrophil (%)			
Adult	0.14	0.83	0.683
Young	0.02	0.00	0.839
Band neutrophil (cell/ μ l)			
Adult	20	8	0.632
Young	1	0	0.833

ตารางที่ 13 (ต่อ)

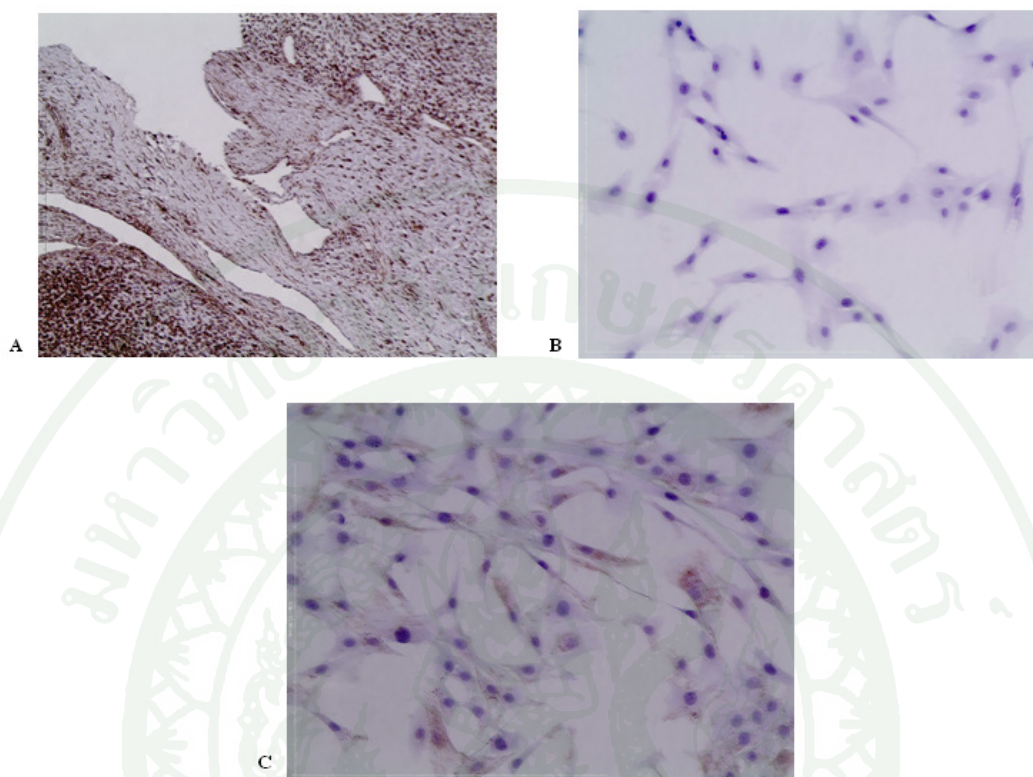
Parameters	Seronegative	Seropositive	P-value
Segment neutrophil (%)			
Adult	47.12	46.25	0.799
Young	34.82	38.25	0.660
Segment neutrophil (cell/ μ l)			
Adult	6,683	5,570	0.110
Young	5,743	4,826	0.589
Lymphocyte (%)			
Adult	40.37	40.92	0.870
Young	54.78	51.25	0.669
Lymphocyte (cell/ μ l)			
Adult	5,622	4,982	0.272
Young	9,054	7,491	0.497
Monocyte (%)			
Adult	5.33	5.29	0.957
Young	5.03	6.50	0.336
Monocyte (cell/ μ l)			
Adult	744	670	0.502
Young	811	905	0.742
Eosinophil (%)			
Adult	6.82	7.25	0.736
Young	5.18	3.75	0.608
Eosinophil (cell/ μ l)			
Adult	1018	1005	0.958
Young	841	420	0.408
Plasma protein (g/dL)			
Adult	7.07	7.19	0.434
Young	6.68	7.20	0.116

ผลการศึกษาที่ 2 การเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะ

จากการเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณข้อของแพะ และย่อยด้วย collagenase ได้เซลล์จำนวนมาก เมื่อนำเซลล์ดังกล่าวมาเพาะเลี้ยงในภาชนะเซลล์สามารถเจริญเป็นเซลล์ชั้นเดียวเกาะติดพื้นผิวภาชนะ (monolayer) ลักษณะของเซลล์มีรูปร่างแบบกระสวย ดังภาพที่ 4 เซลล์จะหยุดแบ่งตัวเมื่อเจริญเต็มพื้นผิวภาชนะ สามารถทำการถ่ายเลี้ยงเซลล์ได้ทุก 7-10 วัน ที่อัตราส่วน 1:2 และสามารถถ่ายเลี้ยงได้มากกว่า 9 ครั้ง เมื่อนำเซลล์ที่ผ่านการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลวมาอุ่นละลายและเพาะเลี้ยงต่อ พบว่าเซลล์ส่วนใหญ่ยังคงสามารถเจริญได้เช่นเดิม และเมื่อนำเซลล์ใน passage ที่ 9 ไปตรวจหา vimentin ด้วยวิธี immunocytochemistry พบว่าเซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงให้ผลบวกต่อการทดสอบ โดยย้อมติดสีน้ำตาลในไซโตพลาสซึมของเซลล์ (ภาพที่ 5C) เช่นเดียวกับตัวควบคุมบวก (ภาพที่ 5A) ส่วนตัวควบคุมลบย้อมไม่ติดสีน้ำตาล (ภาพที่ 5B) ในขณะทำการทดสอบความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอม พบว่าเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้ไม่สามารถจับกินผงคาร์บอนได้ จึงสรุปได้ว่าเซลล์ดังกล่าวเป็นเซลล์เยื่อหุ้มข้อชนิด fibroblast



ภาพที่ 4 เซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะ กำลังขยาย 400 เท่า



ภาพที่ 5 ผลการทดสอบหา vimentin ด้วยวิธี immunocytochemistry (A) เนื้อเยื่อจากเนื้องอกที่มี vimentin (ตัวควบคุมบวก) (กำลังขยาย 100 เท่า) (B) เซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงทำการทดสอบโดยไม่ใส่ anti-vimentin (ตัวควบคุมลบ) (กำลังขยาย 200 เท่า) (C) เซลล์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบ (กำลังขยาย 200 เท่า)

วิจารณ์

ความชุกทางซีรัม

จากการศึกษาความชุกทางซีรัมของการติดเชื้ออ็อกเสบและสมองอักเสบในแพะในครั้งนี้ พบว่ามีความชุกรายฟาร์ม 45.33% และความชุกรายตัวเป็น 12.23% ในการสำรวจทางซีรัมก่อนหน้านี้ จากตัวอย่างแพะในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทยในปี 2530 และ 2531 พบความชุกเพียง 0.64% และ 0% ตามลำดับ (ชัยวัฒน์ และคณะ, 2533) และการศึกษาในฟาร์มแห่งหนึ่งในจังหวัดราชบุรีที่มีแพะแสดงอาการเชื้ออ็อกเสบพบความชุก 21% (สุพล และคณะ, 2547) สำหรับในการศึกษานี้หากคิดความชุกเฉพาะในฟาร์มที่มีปัญหาเชื้ออ็อกเสบซึ่งมีเพียง 2 ฟาร์มและเป็นฟาร์มแพะนมทั้ง 2 ฟาร์ม มีความชุกสูงถึง 75% (15/20) โดยอาการเชื้ออ็อกเสบที่พบในฟาร์มดังกล่าวมักพบที่ข้อขาหน้า สาเหตุที่ทำให้ความชุกแตกต่างกันในแต่ละการศึกษาอาจเนื่องมาจากวิธีที่ใช้ในการทดสอบแตกต่างกัน โดยการศึกษาก่อนหน้านี้ทั้ง 2 การศึกษาใช้ AGID ในการทดสอบ ส่วนในการศึกษานี้ใช้การทดสอบด้วย ELISA ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความไวสูงกว่า (deAndres *et al.*, 2005)

นอกจากนี้ความชุกของการติดเชื้อ CAEV ในประเทศไทยอาจจะสูงขึ้นได้เนื่องจากการเลี้ยงแพะเพิ่มมากขึ้นจากการส่งเสริมของหน่วยงานต่างๆ โดยจากข้อมูลสถิติของกรมปศุสัตว์พบว่า ในปี 2542 ในประเทศไทยมีการเลี้ยงแพะทั้งสิ้น 132,845 ตัว ส่วนในปี 2551 มีแพะในประเทศเพิ่มขึ้นเป็น 374,029 ตัว รวมทั้งมีการนำเข้าแพะมีชีวิตจากต่างประเทศ โดยระหว่างปี 2546 ถึง 2551 มีการนำเข้าแพะจากประเทศออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ บังกลาเทศ พม่า ลาวและจีน เข้ามาในประเทศไทย (กรมปศุสัตว์, 2552) และจากข้อมูลขององค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (OIE) มีรายงานการพบโรคเชื้ออ็อกเสบและสมองอักเสบในแพะในประเทศออสเตรเลียและนิวซีแลนด์จนกระทั่งปี 2551 (OIE, 2009) ซึ่งถึงแม้ว่ากรมปศุสัตว์จะกำหนดให้มีการตรวจโรคเชื้ออ็อกเสบและสมองอักเสบในแพะก่อนนำเข้าด้วยวิธี ELISA และ PCR แต่วิธีการที่ใช้ในการทดสอบอาจมีความไวไม่เพียงพอไม่จำเพาะต่อเชื้อที่ติด หรือสัตว์อาจสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อการติดเชื้อล่าช้าออกไปทำให้ไม่สามารถตรวจพบระดับแอนติบอดีในซีรัมได้ (Grewal *et al.*, 1986; Nord *et al.*, 1988b; Baba *et al.*, 2000) จึงมีโอกาสนำแพะที่ติดเชื้อเข้ามาในประเทศได้ นอกจากนี้การเลี้ยงแพะที่มากขึ้นทำให้มีการซื้อขาย แลกเปลี่ยนและเคลื่อนย้ายแพะภายในประเทศมากขึ้น เป็นเหตุให้โอกาสติดต่อกันของโรคเกิดได้มากขึ้นเช่นกัน ทั้งนี้ในภาคกลางและภาคตะวันตก รวมทั้งทางภาคใต้ของประเทศไทยมีการเลี้ยงแพะหนาแน่นกว่าทางภาคเหนือของประเทศ

เมื่อพิจารณาความชุกทางซีรัมของการติดเชื้อ CAEV ในต่างประเทศเปรียบเทียบกับความชุกที่พบในการศึกษานี้ จะพบว่าความชุกรายตัวของการติดเชื้อ CAEV ในแพะที่เลี้ยงในเขตภาคกลางและภาคตะวันตกของประเทศไทยใกล้เคียงกับในประเทศจอร์แดนและสเปน (12.2 และ 12.1% ตามลำดับ) (Gonzalez *et al.*, 1987; Al-Qudah *et al.*, 2006) ซึ่งสูงกว่าที่พบในไอร์แลนด์เหนือ (0%) เคนยา (0.003%) และเม็กซิโก (0.4%) (Adams *et al.*, 1983b; Adair, 1986; Torres-Acosta *et al.*, 2003) แต่ต่ำกว่าความชุกในสหรัฐอเมริกา (31-81%) บราซิล (49%) ออสเตรเลีย (29-54%) อิตาลี (23.6%) และนอร์เวย์ (40-42%) (Crawford and Adams, 1981; Grewal *et al.*, 1986; East *et al.*, 1987; Cutlip *et al.*, 1992; Garcia *et al.*, 1992; Rowe *et al.*, 1992a; Greenwood *et al.*, 1995b; Nord and Adnoy, 1997; Nord *et al.*, 1998b; Gufler, 2007) ส่วนความชุกรายฟาร์มที่พบในการศึกษานี้ซึ่งเท่ากับ 45.33% มากกว่าของเม็กซิโก จอร์แดนและอิตาลี ที่พบเพียง 3.6, 23.2 และ 38% ตามลำดับ (Torres-Acosta *et al.*, 2003; Al-Qudah *et al.*, 2006; Gufler, 2007) แต่น้อยกว่าในสหรัฐอเมริกา (73%) สเปน (76%) ออสเตรเลีย (82-94%) และนอร์เวย์ (>86%) (Grewal *et al.*, 1986; Gonzalez *et al.*, 1987; Cutlip *et al.*, 1992; Greenwood *et al.*, 1995b; Nord and Adnoy, 1997; Nord *et al.*, 1998b) ความชุกของการติดเชื้อ CAEV ที่แตกต่างกันในแต่ละประเทศนี้น่าจะมีสาเหตุมาจากการจัดการเลี้ยงดูที่แตกต่างกันในแต่ละประเทศ โดยในประเทศที่มีการเลี้ยงแพะมาเป็นเวลานาน เลี้ยงอย่างหนาแน่นและเลี้ยงเชิงอุตสาหกรรมจะมีความชุกของการติดเชื้อสูง ส่วนประเทศที่มีการเลี้ยงแบบไม่หนาแน่นก็จะมีความชุกในระดับต่ำกว่า (Knowles *et al.*, 1992)

สำหรับในประเทศไทยการติดเชื้อ CAEV น่าจะมีมาเป็นระยะเวลาพอสมควรแล้ว โดยมีรายงานครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2528 ในแพะที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์หนองขวาง จังหวัดราชบุรี (อุราศรีและคณะ, 2528) การติดเชื้อเริ่มต้นอาจจะมาจากแพะนำเข้า จากนั้นจึงมีการติดต่อสู่แพะพื้นเมืองภายในฝูง และติดต่อไปยังฝูงอื่นต่อไป เนื่องจากการเลี้ยงในประเทศส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบปล่อยทำให้แพะต่างฝูงมีโอกาสสัมผัสกัน นอกจากนี้เกษตรกรยังมีการซื้อขาย แลกเปลี่ยนพ่อพันธุ์กันเป็นประจำเพื่อหลีกเลี่ยงการผสมเลือดชิด ในการซื้อขาย แลกเปลี่ยนแพะไม่ได้มีการตรวจโรค รวมทั้งเกษตรกรส่วนใหญ่ไม่ได้ให้ความสำคัญในการกักโรคก่อนนำเข้าแพะใหม่เข้าฝูง จึงเป็นช่องทางให้มีการแพร่กระจายของเชื้อเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้หากจะยืนยันว่าการติดเชื้อ CAEV ในประเทศไทยเกิดจากการนำเข้าแพะจากประเทศใดนั้น อาจต้องทำการศึกษาเปรียบเทียบทางพันธุกรรมของเชื้อที่พบในประเทศกับเชื้อที่พบในต่างประเทศต่อไป

การที่พบว่าความชุกรายตัวของแพะนมสูงกว่าแพะเนื้ออาจเป็นผลจากการเลี้ยงแพะนมมีการจัดการหลายอย่างที่เพิ่มโอกาสในการติดต่อของโรค เช่น การน่านมน้ำเหลืองและนมจากแม่

แพะหลายตัวมารวมกันเพื่อให้ลูกแพะกิน หรืออาจเกิดจากความไวต่อการติดเชื้อที่แตกต่างกัน เนื่องจากสายพันธุ์ (ชัยวัธน และคณะ, 2533; Grewal *et al.*, 1986; Robinson and Ellis, 1986; Cutlip *et al.*, 1992; Guflier *et al.*, 2007) ส่วนที่พบว่าแพะเพศเมียมีโอกาสที่จะให้ผลบวกต่อการทดสอบโรคมกกว่าเพศผู้ นั้น ต่างจากการศึกษาส่วนใหญ่ที่พบว่าความชุกของการติดเชื้อจะไม่แตกต่างกันระหว่างเพศ (East *et al.*, 1987; Rowe *et al.*, 1991; Cutlip *et al.*, 1992; Rowe *et al.*, 1992a; Guflier *et al.*, 2007) และตรงข้ามรายงานของ Grewal *et al.* (1986) ที่พบความชุกของโรคในแพะเพศผู้สูงกว่าเพศเมีย โดยได้ให้เหตุผลว่าแพะเพศผู้อาจได้รับนม น้ำเหลืองและนมมากกว่าแพะเพศเมียจึงมีโอกาสติดเชื้อมากกว่าแพะเพศเมีย ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการศึกษานี้มีตัวอย่างจากแพะเพศผู้จำนวนน้อย เนื่องจากแพะเพศผู้ส่วนใหญ่จะถูกขายไปตั้งแต่อายุน้อย เกษตรกรจะคัดเลือกเฉพาะตัวที่แข็งแรงไว้สำหรับเป็นพ่อพันธุ์

ส่วนอายุ พบว่าความชุกในลูกแพะและแพะรุ่นต่ำกว่าในแพะพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับในหลายการศึกษาที่พบว่าความชุกของโรคข้ออักเสบและสมองอักเสบจะเพิ่มสูงขึ้นตามอายุ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการติดเชื้อสามารถเกิดได้หลายทางนอกเหนือจากติดผ่านทางรก นม น้ำเหลืองและนม แอนติบอดีต่อการติดเชื้อในสัตว์บางตัวเกิดขึ้นช้า และระดับแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นจะเพิ่มมากขึ้นตามอายุของแพะ (Greenwood *et al.*, 1995; Nord *et al.*, 1998; Al-Qudah *et al.*, 2006) ในทางตรงข้าม การศึกษาของ Grewal และคณะ (1986) พบว่าความชุกของโรคไม่แตกต่างกันตามอายุของแพะ โดยเชื่อว่าการติดเชื้อข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะมักเกิดขึ้นตั้งแต่แพะยังอายุน้อยจากการกินนม น้ำเหลืองและนมจากแม่แพะ อย่างไรก็ตามเนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่จำอายุของแพะที่เลี้ยงไม่ได้ การศึกษานี้จึงจำแนกอายุของแพะออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ แพะรุ่นและลูกแพะกับพ่อและแม่พันธุ์แพะ โดยตัดสินว่าแพะเป็นพ่อหรือแม่พันธุ์ต่อเมื่อแพะตัวนั้นผ่านการผสมพันธุ์

เมื่อพิจารณาเฉพาะในแพะนมพบว่า ช่วงอายุไม่มีผลต่อการให้ผลบวกต่อการทดสอบ แต่เพศมีผลต่อการให้ผลบวกต่อการทดสอบ โดยเพศเมียมีโอกาสให้ผลบวกเป็น 4.4 เท่าของเพศผู้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการติดเชื้อในแพะนมส่วนใหญ่เกิดตั้งแต่ตอนที่แพะอายุน้อยจากกินนม น้ำเหลืองหรือนมจากแม่ที่ติดเชื้อ เมื่อแพะอายุมากขึ้นมักจะถูกเลี้ยงเป็นคอกเดี่ยว โอกาสติดเชื้อทางการสัมผัสจึงน้อย และแพะเพศผู้ส่วนใหญ่ในฟาร์มเป็นแพะที่มาจากฟาร์มอื่น ไม่ได้เกิดภายในฟาร์ม นั้น อีกทั้งยังถูกแยกเลี้ยงจากแพะเพศเมีย สถานะการติดเชื้อจึงแตกต่างจากแพะเพศเมียซึ่งเป็นแพะที่เกิดภายในฟาร์ม ส่วนในแพะเนื้อนั้นแพะพ่อแม่พันธุ์ให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 2.6 เท่าของแพะรุ่นและลูกแพะ แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศ ซึ่งอาจเนื่องจากแพะเนื้อจะถูกเลี้ยง

รวมกันทั้งหมดทั้งที่อายุต่างกันและเพศต่างกัน ดังนั้นโอกาสติดเชื้อจึงไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศ แต่จะมีโอกาสติดเชื้อเพิ่มสูงขึ้นตามอายุเนื่องจากแพะจะได้สัมผัสกับแพะตัวอื่นจึงมีโอกาสติดเชื้อผ่านทางสัมผัสทั้งโดยตรงและทางอ้อม

การแปลผลการทดสอบจากชุดทดสอบในการศึกษานี้ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตจะแบ่งผลเป็นบวก ลบและสงสัย สำหรับการศึกษานี้ตัวอย่างซีรัมที่ให้ผลสงสัยจะถูกทดสอบซ้ำอีกครั้งหนึ่ง ซึ่งมีตัวอย่างซีรัมที่ยังคงให้ผลอยู่ในระดับสงสัย 25 ตัวอย่าง โดยทางบริษัทผู้ผลิตแนะนำให้เก็บตัวอย่างจากแพะตัวเดิมอีกครั้งเพื่อนำมาทดสอบซ้ำ และหากยังคงให้ผลการทดสอบเป็นสงสัยอีกอาจต้องใช้วิธีการอื่นในการทดสอบ อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้ทำการเก็บตัวอย่างซ้ำจากแพะตัวที่ให้ผลสงสัย จึงไม่สามารถยืนยันสถานะการติดเชื้อในแพะเหล่านี้ได้ และเนื่องจากชุดทดสอบที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถตรวจหาได้ทั้งแอนติบอดีต่อเชื้อ CAEV ในแพะและ MVV ในแกะ ซึ่งแพะสามารถติดเชื้อและสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อ MVV ได้ (Shah et al., 2004) โดยที่มักจะไม่สามารถแสดงอาการผิดปกติให้เห็น ในกรณีที่มีอาการมักจะมีการทางระบบประสาท ซึ่งต่างจากในแกะที่ติดเชื้อซึ่งมักแสดงอาการในระบบทางเดินหายใจ (Lamontagne et al., 1983) อย่างไรก็ตามโอกาสที่แพะจะติดเชื้อ MVV จากแกะตามธรรมชาติเกิดขึ้นได้ยาก (Banks et al., 1983; Grewal et al., 1986; Shah et al., 2004; Gjerset et al., 2007) รวมทั้งแพะที่ใช้ในการศึกษานี้ส่วนใหญ่ไม่ได้เลี้ยงร่วมกับแกะ ดังนั้นแพะที่ให้ผลบวกทางซีรัมในการศึกษานี้จึงน่าจะเกิดจากการติดเชื้อ CAEV

จากความชุกของการติดเชื้อข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะที่พบจากการศึกษานี้แม้จะยังถือว่าอยู่ในระดับต่ำ (Reina et al., 2009) แต่ก็ไม่ควรมองข้าม โดยควรมีการกำหนดมาตรการควบคุมการติดเชื้อ เริ่มจากสร้างความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องเกี่ยวกับการติดเชื้อข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะให้แก่เกษตรกร เนื่องจากแพะที่ติดเชื้อนี้ส่วนใหญ่จะไม่แสดงอาการให้เห็น ดังนั้นหากเกษตรกรไม่มีความรู้อาจไม่เห็นถึงความสำคัญในการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อ จากการศึกษาในครั้งนี้พบฟาร์มแพะนมแห่งหนึ่งมีความชุกสูงถึง 90% แต่ในช่วงที่เข้าไปเก็บตัวอย่างไม่มีแพะแสดงอาการของการติดเชื้อ CAEV แต่หลังจากนั้นเกษตรกรแจ้งว่ามีแพะในฟาร์มแสดงอาการทางระบบประสาท ซึ่งตรงกับที่ Rowe and East (1997) รายงานไว้ว่าหากความชุกของการติดเชื้อในฝูงสูงขึ้นอาการของโรคที่พบและความสูญเสียทางเศรษฐกิจก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วย การควบคุมและป้องกันการติดเชื้อที่เกษตรกรควรดำเนินการ คือ กรณีที่ฝูงมีแพะแสดงอาการของโรคสูงให้ทำการคัดทิ้งแพะทั้งฝูงและหากจะเริ่มเลี้ยงใหม่ให้เลือกแพะที่ปลอดจากการติดเชื้อ วิธีการอื่นที่ควรทำร่วมด้วย ได้แก่ แยกลูกแพะออกจากแม่แพะทันทีที่เกิด และให้ลูกแพะได้รับนมแม่หรือนมที่

ปลอดจากเชื้อเชื้ออักเสบและสมองอักเสบ เช่น นมวัวเหลืองแพะที่ผ่านความร้อน 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที นมวัวเหลืองโค นมแพะที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ หรือนมโค และทำการทดสอบ การติดเชื้อทางซีรัมเป็นประจำทุก 6 เดือน หากพบตัวที่ให้ผลบวกให้ทำการคัดทิ้ง (Adams *et al.*, 1983a; Ellis *et al.*, 1983b; East *et al.*, 1987; MacKenzie *et al.*, 1987; Ellis, 1988; Smith and Sherman, 1994; Hanson *et al.*, 1996; Nord *et al.*, 1998a; Reilly *et al.*, 2002) ซึ่งในทางปฏิบัติการ คัดทิ้งอาจก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจและทางพันธุกรรมมาก จึงแนะนำให้แยกเลี้ยงแพะที่ ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบเพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อ โดยแยกให้ห่างจากกัน อย่างน้อย 2 เมตร (Adams *et al.*, 1983a) นอกจากนี้ยังต้องควบคุมการนำเข้าแพะ โดยต้องนำมาจาก ฝูงที่ปลอดโรคและผ่านการกักและทดสอบโรคก่อนนำเข้าฝูง (Smith and Sherman, 1994; Lerondelle *et al.*, 1995; Baba *et al.*, 2000) และถึงแม้ว่าปัจจัยเสี่ยงของการติดเชื้อในแพะนมและ แพะเนื้อจะแตกต่างกัน แต่การควบคุมป้องกันก็ควรทำให้ครอบคลุมทุกด้าน

การเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยา

ค่าโลหิตวิทยาระหว่างแพะที่ให้ผลบวกและแพะที่ให้ผลลบต่อการทดสอบมีความแตกต่างกันหลายค่า ทั้งเมื่อพิจารณารวมทั้ง 2 สายพันธุ์ และพิจารณาแยกแต่ละสายพันธุ์ตามเพศและช่วง อายุ อย่างไรก็ตามค่าที่แตกต่างกันนี้บางค่ายังอยู่ในเกณฑ์ปกติทั้งในแพะที่ให้ผลบวกและผลลบต่อ การทดสอบ ได้แก่ ค่าเม็ดเลือดแดง เปอร์เซ็นต์ segment neutrophil จำนวน lymphocyte และ eosinophil บางค่าไม่อยู่ในช่วงปกติทั้งกลุ่มที่ให้ผลบวกและให้ผลลบต่อการทดสอบ ได้แก่ MCV และ เปอร์เซ็นต์ lymphocyte สำหรับค่า MCH, MCHC และค่าเม็ดเลือดขาวรวมในแพะที่ให้ผลบวก อยู่ในช่วงเกณฑ์ปกติ แต่ในกลุ่มแพะที่ให้ผลลบต่อการทดสอบแตกต่างจากค่าปกติ ซึ่งน่าจะเป็นผล มาจากการเปรียบจากค่าอ้างอิงของแพะที่เลี้ยงในต่างประเทศ ค่าเหล่านี้จึงไม่สามารถใช้เพื่อบ่งบอก ถึงการติดเชื้อ CAEV ได้ อย่างไรก็ตามการที่ค่าเม็ดเลือดแดงมีแนวโน้มต่ำกว่าในกลุ่มที่ให้ผลบวก ต่อการทดสอบน่าจะเป็นผลมาจากแพะที่ติดเชื้อได้รับอาหารไม่เพียงพอ ส่งผลให้ร่างกายมีการผลิต เม็ดเลือดแดงน้อยลง (Cork *et al.*, 1974; Crawford and Adams, 1981) นอกจากนี้อาจเป็นผลมาจาก การที่แพะที่ติดเชื้อมีโอกาสเกิดปัญหาพยาธิภายในทางเดินอาหารมากกว่า (Greenwood, 1995a) เป็นผลทำให้เกิดโลหิตจางตามมา ซึ่งภาวะโลหิตจางก็จะส่งผลให้ค่า MCV, MCH และ MCHC เปลี่ยนแปลงไปด้วย ส่วนเปอร์เซ็นต์และจำนวน segment neutrophil ที่มีแนวโน้มสูงในแพะที่ติด เชื้อ อาจมีสาเหตุมาจากแพะที่ติดเชื้อ CAEV มีโอกาสเกิดการติดเชื้อและการอักเสบได้มากกว่าแพะ ที่ไม่ติดเชื้อ (Smith and Cutlip, 1988a; Greenwood, 1995a) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์และจำนวน lymphocyte มีแนวโน้มต่ำในแพะที่ติดเชื้ออาจบ่งบอกถึงการติดเชื้อเรื้อรัง (Al-Ani and Vestweber,

1984f) สำหรับค่า RDW นั้นไม่มีประโยชน์ในการวินิจฉัยความผิดปกติในแพะ เนื่องจากแพะมีขนาดเม็ดเลือดแดงไม่เท่ากันตามธรรมชาติอยู่แล้ว (เกลียว, 2548)

ส่วนค่าฮีโมโกลบินและความเข้มข้นของเลือดในกลุ่มที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบต่ำกว่ากลุ่มที่ให้ผลลบต่อการทดสอบและต่ำกว่าค่าปกติ เป็นไปในแนวทางเดียวกับที่ Cork *et al.* (1974) และ Crawford and Adams (1981) พบว่าแพะที่ติดเชื้อ CAEV จะมีภาวะโลหิตจาง ซึ่งอาจไม่ได้เป็นผลจากการติดเชื้อ CAEV โดยตรง แต่เกิดจากแพะที่ติดเชื้อกินอาหารได้ลดลง จึงส่งผลให้สร้างเม็ดเลือดแดงได้น้อยลงและมีค่าความเข้มข้นของเลือดรวมทั้งฮีโมโกลบินน้อยลง นอกจากนี้ยังพบว่าค่าโปรตีนในพลาสมาในแพะที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบสูงกว่ากลุ่มที่ให้ผลลบต่อการทดสอบ อาจเป็นเพราะว่าแพะที่ติดเชื้อมีการสร้างแอนติบอดีและโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเพิ่มมากขึ้น หรืออาจมีสาเหตุมาจากภาวะขาดน้ำ อย่างไรก็ตามค่าที่เปลี่ยนแปลงไปเหล่านี้ก็ไม่ได้จำเพาะกับการติดเชื้อ CAEV เท่านั้น ดังนั้นการตรวจทางโลหิตวิทยาจึงไม่สามารถบ่งชี้ถึงการติดเชื้อ CAEV ได้

ค่าโลหิตวิทยาของแพะที่เลี้ยงในประเทศไทยอาจไม่สามารถเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงของต่างประเทศได้ เนื่องจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น สายพันธุ์ การเลี้ยงดู และอาหารที่แตกต่างกัน ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลต่อค่าโลหิตวิทยา ดังนั้นในอนาคตจึงควรต้องมีการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของแพะที่เลี้ยงในประเทศไทย เพื่อใช้ในการบ่งชี้ถึงความผิดปกติที่เกิดขึ้นกับแพะที่เลี้ยงภายในประเทศ

การเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะ

วิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์จากเยื่อหุ้มข้อของแพะในการศึกษานี้ต่างจากในการศึกษาอื่น โดยในการศึกษาอื่นจะใช้วิธีการ explant เยื่อหุ้มข้อของแพะที่ปลอดเชื้อลงในภาชนะเพาะเลี้ยง แล้วรอให้เซลล์เจริญแผ่ออกจากรอบๆ ชิ้นเนื้อเยื่อที่ explant ไว้ในตอนแรกและเคลื่อนตัวออกจนเต็มพื้นภาชนะ เกิดเป็นเซลล์ชั้นเดียว (Crawford *et al.*, 1980a; Narayan *et al.*, 1980; Klevjer-Anderson and Cheevers, 1981; Rolland *et al.*, 2004) ขณะที่การศึกษานี้ใช้การย่อยชิ้นเนื้อเยื่อด้วยเอนไซม์ให้หลุดเป็นเซลล์เดี่ยวก่อนนำไปเพาะเลี้ยง โดยได้ใช้เอนไซม์ collagenase นอกจากนี้ในรายงานส่วนมากจะใช้เนื้อเยื่อจาก embryo, fetus หรือลูกแพะที่ยังไม่ได้รับนมแม่เหลืองเพื่อให้แน่ใจว่าเซลล์ที่นำมาเพาะเลี้ยงไม่มีการติดเชื้อ CAEV อยู่ก่อน (Cork *et al.*, 1980; Crawford *et al.*, 1980a; Crawford *et al.*, 1980b; Narayan *et al.*, 1980; Klevjer-Anderson and Cheevers, 1981; Gjerset *et al.*, 2007) แต่ในการศึกษานี้ได้เซลล์มาจากแพะที่ถูกส่งเข้าโรงฆ่าสัตว์ซึ่งอายุประมาณ 5 เดือน ที่ได้รับนมแม่เหลืองมาแล้ว จึงได้ทำการเก็บตัวอย่างซีรัมก่อนที่จะนำแพะมาเพื่อตรวจยืนยันว่าแพะไม่มี

แอนติบอดีต่อเชื้อ CAEV ซึ่งโดยทั่วไปเซลล์ที่ได้จากตัวอ่อนของสัตว์หรือจากสัตว์อายุน้อยจะมีโอกาสรอดชีวิตและสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าเซลล์ที่ได้จากสัตว์อายุมาก เนื่องจากเซลล์จากตัวอ่อนหรือสัตว์อายุน้อยจะมีความจำเพาะต่ำกว่าและมีความสามารถในการแบ่งตัวมากกว่า (Freshney, 2000) ซึ่งถึงแม้ว่าในการศึกษานี้จะไม่ได้ใช้เซลล์จากลูกแพะแรกเกิดแต่เซลล์ที่ได้ก็สามารถเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี

จากการเพาะเลี้ยงเริ่มต้นทั้งหมดจำนวน 6 flask พบว่า 5 flask มีการปนเปื้อนด้วยเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งน่าจะเกิดในขั้นตอนการเก็บเนื้อเยื่อมาเพาะเลี้ยงที่ไม่ปลอดเชื้อ และเชื้อที่ปนเปื้อนไม่ไวต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง แต่ไม่ได้มีการศึกษาชนิดของเชื้อที่ปนเปื้อน การปนเปื้อนทำให้ไม่สามารถทำการเพาะเลี้ยงต่อไปได้ ดังนั้นในขั้นตอนการเก็บเนื้อเยื่อสำหรับเพาะเลี้ยงจะต้องทำด้วยวิธีการที่ปลอดเชื้อ ร่วมกับใช้สารเคมีช่วยในการฆ่าเชื้อ เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ยังไม่มีการปนเปื้อนที่เหลือต่อไป อีก 1 สัปดาห์ ก็พบมีการปนเปื้อนเกิดขึ้นอีก ซึ่งคาดว่าเป็นการปนเปื้อนเชื้อ *Mycoplasma spp.* เนื่องจากพบการปนเปื้อนหลังจากเพาะเลี้ยงมาแล้วเป็นเวลานาน แต่ไม่ได้มีการพิสูจน์ว่าเชื้อดังกล่าวเป็นเชื้อชนิดใด โดยปกติสามารถตรวจยืนยันการปนเปื้อนเชื้อ *Mycoplasma spp.* ได้ด้วยการเพาะเลี้ยง การย้อมด้วยสี Hoechst และ PCR เป็นต้น (Hay *et al.*, 2000) หลังจากพบการปนเปื้อนในครั้งนี้ ได้ทำการเพิ่มยาปฏิชีวนะ marbofloxacin 0.01% ในอาหารเลี้ยงเซลล์นอกเหนือจาก penicillin และ streptomycin ที่ใช้อยู่เดิม ก็สามารถควบคุมการปนเปื้อนดังกล่าวได้ การปนเปื้อนด้วย *Mycoplasma spp.* ที่คาดว่าจะเกิดขึ้นนี้อาจมาจากการปนเปื้อนในห้องปฏิบัติการ หรือเนื้อเยื่อที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอาจจะมีเชื้ออยู่แล้ว โดยเชื้อ *Mycoplasma spp.* เป็นเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดข้ออักเสบในแพะได้ และสามารถแยกเชื้อจากน้ำไขข้อของแพะที่ติดเชื้อได้ (Singh *et al.*, 2004) ดังนั้นในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงจึงจำเป็นต้องทำด้วยวิธีการที่ปลอดเชื้อ อีกทั้งเนื้อเยื่อแพะที่นำมาเพาะเลี้ยงควรจะนำมาจากแพะที่ได้รับการตรวจยืนยันว่าไม่มีการติดเชื้อ *Mycoplasma spp.* โดยอาศัยการเพาะแยกเชื้อ (Smith and Sherman, 1994)

หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ได้จำนวนหนึ่งได้ทดลองแช่แข็งเซลล์ passage ที่ 6 ในไนโตรเจนเหลว เก็บไว้เพื่อลดค่าใช้จ่ายสารเคมีในการเพาะเลี้ยง เมื่อทำการอุ่นละลายเซลล์หลังจากที่แช่แข็งไว้เป็นเวลา 15 วัน และนำไปเพาะเลี้ยงพบว่าเซลล์สามารถเจริญได้ตามปกติ ดังนั้นจึงสามารถแช่แข็งเซลล์นี้ไว้ใช้สำหรับการศึกษาต่อไปได้โดยไม่ต้องสิ้นเปลืองสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

เนื่องจากเซลล์เยื่อหุ้มข้อแบ่งเป็น 2 ชนิด คือ macrophage และ fibroblast แต่เซลล์ที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อ CAEV เป็นเซลล์ชนิด fibroblast จึงได้ทำการพิสูจน์ยืนยันชนิดของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้ การพิสูจน์ว่าเป็นเซลล์ชนิด fibroblast ทำได้โดยการตรวจหา vimentin ซึ่งเป็น intermediate filament ของเซลล์ที่มีต้นกำเนิดมาจาก mesenchyme ซึ่งรวมถึงเซลล์เยื่อหุ้มข้อชนิด fibroblast ในทางตรงข้าม หากเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้เป็นเซลล์เยื่อหุ้มข้อชนิด macrophage จะต้องมีความสามารถในการจับกินสิ่งแปลกปลอม ซึ่งสามารถตรวจสอบความสามารถดังกล่าวได้โดยการใส่ผงคาร์บอนลงในอาหารเลี้ยงเซลล์เพาะเลี้ยง เซลล์ที่สามารถจับกินผงคาร์บอนได้แสดงว่าเป็นเซลล์ชนิด macrophage อย่างไรก็ตามรูปร่างภายนอกของเซลล์ก็พอจะบ่งบอกชนิดของเซลล์ได้ โดยเซลล์ชนิด fibroblast จะมีลักษณะเป็นรูปกระสวย ขณะที่เซลล์ macrophage จะมีรูปร่างไม่แน่นอน นอกจาก vimentin แล้ว propyl 4-hydroxylase, vascular cell adhesion molecule-1, CD44, CD55, CD90 และ cadherin-11 ก็สามารถใช้เป็น marker สำหรับเซลล์เยื่อหุ้มข้อชนิด fibroblast ได้ (Tobe *et al.*, 2002; Rosengren *et al.*, 2007) สำหรับผลการตรวจชนิดของเซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้พบว่าเป็นเซลล์ชนิด fibroblast เนื่องจากให้ผลบวกต่อการทดสอบด้วยวิธี immunocytochemistry ด้วย anti-vimentin และเซลล์ไม่มีความสามารถในการจับกินผงคาร์บอน เซลล์เยื่อหุ้มข้อเพาะที่เพาะเลี้ยงได้จะต้องนำไปศึกษาการยอมรับเชื้อ CAEV ต่อไป และอาจจะศึกษาการยอมรับเชื้อชนิดอื่น ซึ่งหากสามารถยอมรับเชื้ออื่นได้ด้วยการนำเซลล์นี้ไปใช้ประโยชน์ก็จะกว้างขึ้น

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาความชุกทางซีรัมของการติดเชื้อไวรัสซิกา อีโบลา และสมองอักเสบในแพะ มีข้อสรุปแบ่งเป็น 2 ส่วน ตามการศึกษา ดังนี้

1. การศึกษาความชุกทางซีรัมต่อการติดเชื้อ CAEV ทั้งรายตัวและรายฟาร์ม และการเปลี่ยนแปลงของค่าโลหิตวิทยาในแพะที่ติดเชื้อ

ความชุกทางซีรัมของการติดเชื้ออีโบลา และสมองอักเสบในแพะที่พบจากการศึกษานี้ ทั้งในรายตัวและรายฟาร์มถือว่าไม่สูงเมื่อเทียบกับที่พบในต่างประเทศที่มีการเลี้ยงแบบอุตสาหกรรม แต่ถือว่าสูงเมื่อเทียบกับที่ผู้วิจัยคาดไว้ก่อนดำเนินการศึกษา โดยอ้างอิงจากรายงานความชุกในแพะที่เลี้ยงทางภาคเหนือของประเทศก่อนหน้านี้ นอกจากนี้ยังพบว่าแพะนมเพศเมียมีโอกาสให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 4.4 เท่าของเพศผู้ และแพะเนื้อที่เป็นพ่อแม่พันธุ์มีโอกาสให้ผลบวกต่อการทดสอบเป็น 2.6 เท่าของแพะรุ่นและลูกแพะ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการจัดการเลี้ยงดูที่แตกต่างกันในแพะแต่ละชนิด โดยแพะนมส่วนใหญ่จะติดเชื้อตั้งแต่อายุน้อยจากการกินนม น้ำเหลืองและน้ำนมที่มีเชื้อ ขณะที่แพะเนื้อมีโอกาสติดเชื้อเพิ่มมากขึ้นตามอายุผ่านการสัมผัสทั้งทางตรงและทางอ้อม นอกจากนี้ยังพบว่าแพะที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบทางซีรัมส่วนใหญ่ไม่แสดงอาการผิดปกติที่เกิดจากการติดเชื้อเช่นเดียวกับรายงานที่พบจากต่างประเทศ

การควบคุมและป้องกันการติดเชื้อในที่นี้ผู้วิจัยแนะนำให้แยกลูกแพะออกจากแม่แพะทันทีที่เกิด และเลี้ยงด้วยนม น้ำเหลืองและนมที่ปราศจากเชื้อ เพื่อป้องกันการติดต่อจากการกินนม น้ำเหลืองหรือนมจากแม่แพะที่ติดเชื้อซึ่งเป็นทางหลักในการติดต่อของเชื้อนี้ ร่วมกับการทดสอบโรคเป็นประจำ และแยกเลี้ยงแพะที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบ เพื่อป้องกันการติดเชื้อจากการสัมผัสที่อาจเกิดขึ้นได้ รวมถึงไม่นำแพะที่ยังไม่ได้รับการยืนยันว่าปลอดเชื้อเข้าสู่ฝูง

จากการเปรียบเทียบค่าโลหิตวิทยาระหว่างแพะที่ให้ผลบวกและผลลบต่อการทดสอบทางซีรัม พบว่าแพะที่ติดเชื้อจะมีค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นและความเข้มข้นของฮีโมโกลบินน้อยกว่าแพะที่ให้ผลลบต่อการทดสอบทางซีรัม รวมทั้งมีปริมาณโปรตีนในพลาสมาสูงกว่าสูงกว่าแพะที่ให้ผลลบต่อการทดสอบทางซีรัม อย่างไรก็ตามค่าที่เปลี่ยนแปลงนี้ไม่ได้เป็นผลโดยตรงที่จำเพาะต่อการ

ติดเชื้ออวัยวะและสมองอักเสบในแพะ แต่เป็นผลทางอ้อมจากการติดเชื้อเท่านั้น ดังนั้นการตรวจทางโลหิตวิทยาจึงไม่สามารถช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสอวัยวะและสมองอักเสบในแพะได้

2. การเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะ

สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะได้จากการขูดเนื้อเยื่อบริเวณข้อของลูกแพะที่ให้ผลต่อการทดสอบการติดเชื้อทางซีรัมด้วยเอนไซม์ โดยในขั้นตอนการเก็บชิ้นเนื้อเยื่อและการเพาะเลี้ยงจะต้องทำด้วยวิธีการที่ปลอดเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนซึ่งจะทำให้เซลล์ที่เกิดการปนเปื้อนไม่สามารถเลี้ยงต่อไปได้ เซลล์ที่เพาะเลี้ยงได้เป็นเซลล์เยื่อหุ้มข้อชนิด fibroblast โดยเซลล์ที่ได้สามารถทำการถ่ายเลี้ยงได้มากกว่า 9 ครั้ง อีกทั้งยังสามารถแช่แข็งเก็บไว้โดยที่เมื่ออุ่นละลายแล้วเซลล์ยังคงคุณสมบัติในการเจริญเติบโตได้ ซึ่งจะทำให้สามารถเก็บเซลล์ไว้ใช้ได้เป็นเวลานาน โดยที่ประหยัดค่าใช้จ่ายด้านสารเคมีในการเพาะเลี้ยง

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาที่ 1 พบว่าในบางฟาร์มที่เข้าไปเก็บตัวอย่างแม้จะมีความซุกทางซีรัมของการติดเชื้อไวรัสอวัยวะและสมองอักเสบในแพะสูงแต่ไม่มีแพะที่แสดงอาการของการติดเชื้อ ทำให้เกษตรกรยังไม่เห็นถึงความสำคัญของเชื้อนี้ ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการส่งเสริมการเลี้ยงแพะจึงควรศึกษาถึงผลกระทบของการติดเชื้อไวรัสอวัยวะและสมองอักเสบในแพะในเชิงเศรษฐกิจ เพื่อให้เกษตรกรรับรู้ถึงความสูญเสียที่เกิดจากการติดเชื้อและเห็นถึงความสำคัญในการควบคุมป้องกันโรค อีกทั้งยังสามารถใช้เป็นข้อมูลในการตัดสินใจกำหนดมาตรการควบคุมป้องกันการติดเชื้อ ซึ่งจะช่วยลดความซุกของการติดเชื้อในประเทศและอาจสามารถกำจัดเชื้อออกจากประเทศได้

2. กรณีที่ผลการทดสอบทางซีรัมอยู่ในระดับที่สงสัยควรทำการทดสอบซ้ำด้วยตัวอย่างซีรัมเดิม หรือเก็บตัวอย่างใหม่จากแพะตัวเดิมเพื่อทดสอบซ้ำด้วยวิธีเดิมหรือวิธีอื่น จนกว่าจะได้สถานะที่แท้จริงของสัตว์ เพื่อการจัดการในการควบคุมป้องกันการติดเชื้อต่อไป

3. ควรทำการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของแพะที่เลี้ยงในประเทศไทย เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่างที่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยา ดังนั้นค่าโลหิตวิทยาจากการศึกษาในต่างประเทศจึงอาจใช้อ้างอิง

ไม่ได้กับแพะที่เลี้ยงในประเทศไทย ดังผลของการศึกษาที่ 1 พบว่าค่าโลหิตวิทยาเฉลี่ยของแพะทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษาค่าโลหิตวิทยาบางค่าไม่อยู่ในช่วงปกติของค่าอ้างอิงที่มาจากการศึกษาจากต่างประเทศ ซึ่งหากมีการศึกษาค่าโลหิตวิทยาของแพะภายในประเทศจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการช่วยวินิจฉัยความผิดปกติต่างๆ ของแพะที่เลี้ยงในประเทศ

4. จากการศึกษาที่ 2 เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะ พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงเซลล์จากเนื้อเยื่อของแพะที่ไม่ใช่ตัวอ่อนหรือลูกแพะแรกเกิดดังเช่นที่การศึกษาก่อนหน้านี้ใช้ได้ ดังนั้นจึงไม่จำเป็นที่จะต้องฆ่าแพะเพื่อเก็บเซลล์มาเพาะเลี้ยง แต่สามารถเก็บเซลล์ได้จากแพะที่โรงฆ่าสัตว์ อย่างไรก็ตามแพะที่จะถูกเก็บเนื้อเยื่อควรผ่านการทดสอบว่าไม่ติดเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบ และอาจทดสอบว่าไม่มีการติดเชื้อ *Mycoplasma spp.* ด้วย เพื่อป้องกันการปนเปื้อนขณะเพาะเลี้ยง

5. เซลล์เยื่อหุ้มข้อของแพะที่เพาะเลี้ยงได้จะต้องนำไปศึกษาการยอมรับเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะ หากสามารถยอมรับได้ก็สามารถนำเซลล์นี้ไปใช้ในการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อต่อไปได้ นอกจากนี้อาจจะนำเซลล์ที่ได้นี้ไปศึกษาการยอมรับเชื้อชนิดอื่นที่มีเซลล์เป้าหมายเป็นหรือใกล้เคียงกับเซลล์เยื่อหุ้มข้อ หากเซลล์ที่ได้นี้สามารถยอมรับเชื้อชนิดอื่นได้ด้วยก็จะมีประโยชน์เป็นอย่างมากต่อการศึกษาและนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2552. ข้อมูลแสดงจำนวนสัตว์ภายในประเทศ. แหล่งที่มา: <http://www.dld.go.th>, 15 ตุลาคม 2552.

เฉลิม ศาลากิจ. 2548. โลหิตวิทยาทางสัตวแพทย์. ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นครปฐม.

ชัยวัฒน์ วิฑูระกุล, วัชรนา นพคุณ และ วารุณี นาแพร่. 2533. การสำรวจโรคข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะ. สัตวแพทย์สาร 41 (3): 125-128.

สุพล จันทโคตร และ มนต์ชัย วัฒนกุล. 2548. กรณีศึกษาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสโรคข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะที่ฟาร์มในจังหวัดราชบุรี. จุลสารปศุสัตว์เขต 7 9 (1-3): 58-69.

อุราศรี ดันตสวัสดิ์, วัฒนา วัฒนวิจารณ์, วาสนา ภิญโญชนม์, อารุณี มาลยมาน, อารี ทรัพย์เจริญ และ สุจิรา ปาจริยานนท์. 2528. Caprine arthritis-encephalitis like virus infection ในแพะพันธุ์ซานเนน, น. 376-377. ใน ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์ ครั้งที่ 12. สัตวแพทย์สมาคมแห่งประเทศไทย.

Adair, B.M. 1986. Serological surveillance for maedi-visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus in Northern Ireland. **Vet. Rec.** 118: 422-423.

Adams, D.S., T.B. Crawford, K.L. Banks, T.C. McGuire and L.E. Perryman. 1980a. Immune responses of goats persistently infected with caprine arthritis-encephalitis virus. **Inf. Imm.** 26 (3): 421-427.

Adams, D.S., T.B. Crawford and P. Klevjer-Anderson. 1980b. A pathogenetic study of the early connective tissue lesions of viral caprine arthritis-encephalitis. **Am. J. Pathol.** 99 (2): 257-278.

- Adams, D.S., P. Klevjer-Anderson, J.L. Carlson, T.C. McGuire and J.R. Gorham. 1983a. Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. **Am. J. Vet. Res.** 44 (9): 1670-1675.
- Adams, D.S., B.M. Mugenya, E.W. Allonby, J.F. Bell, S. Waghela and R. Heinonen. 1983b. Observations on caprine arthritis-encephalitis in Kenya. **Vet. Rec.** 112 (21): 227-228.
- Al-Ani, F.K. and J.G.E. Vestweber. 1984a. Caprine arthritis-encephalitis syndrome (CAE): A review. **Vet. Res. Commun.** 8: 243-253.
- Al-Ani, F.K. and J.G.E. Vestweber. 1984b. Caprine arthritis-encephalitis syndrome (CAE): A review. **Vet. Res. Commun.** 8: 243-253. *Cited* D.S. Adams. 1979. Pathogenetic studies on the arthritis of viral caprine arthritis-encephalitis. **Dis. Abstract International** 40B : 1638.
- Al-Ani, F.K. and J.G.E. Vestweber. 1984c. Caprine arthritis-encephalitis syndrome (CAE): A review. **Vet. Res. Commun.** 8: 243-253. *Cited* D.S. Adams. 1982. The meaning of the agar gel immunodiffusion test (AGID) for antibody against caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV). **Dairy Goat J.** 60 : 633-635.
- Al-Ani, F.K. and J.G.E. Vestweber. 1984d. Caprine arthritis-encephalitis syndrome (CAE): A review. **Vet. Res. Commun.** 8: 243-253. *Cited* D.S. Adams and T.B. Crawford. 1980. CAE: a viral arthritis-encephalitis syndrome in goats. **Int. Goat and Sheep Res.** 1 : 168-172.
- Al-Ani, F.K. and J.G.E. Vestweber. 1984e. Caprine arthritis-encephalitis syndrome (CAE): A review. **Vet. Res. Commun.** 8: 243-253. *Cited* J. Ellis and J.C. DeMartini. 1983. Retroviral disease in small ruminants: Ovine progressive pneumonia and caprine arthritis-encephalitis. **Comp. Cont. Educat. Pract. Vet.** 5 :S173-S183.

- Al-Ani, F.K. and J.G.E. Vestweber. 1984f. Caprine arthritis-encephalitis syndrome (CAE): A review. **Vet. Res. Commun.** 8: 243-253. *Cited* D.C. Blood, J.A. Henderson and O.M. Radostits. 1979. **Veterinary medicine.** 5 ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Al-Qudah, K., A.M. Al-Majali and Z.B. Ismail. 2006. Epidemiological studies on caprine arthritis-encephalitis virus infection in Jordan. **Small Rumin. Res.** 66: 181-186.
- Ali, O.A. 1987. Caprine arthritis-encephalitis related changes in the uterus of a goat. **Vet. Rec.** 121: 131-132.
- Archambault, D., N. East, M. Perk and J.E. Dahlberg. 1988. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for caprine arthritis-encephalitis virus. **J. Clin. Microbiol.** 26 (5): 971-975.
- Baba, S.S., A.I. Fotabe, M.M. Baba and E. Rimstad. 2000. Preliminary survey for antibodies against caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) using recombinant GAG proteins: studies among small ruminant populations in north-eastern Nigeria. **Small Rumin. Res.** 37: 137-140.
- Banks, K.L., D.S. Adams, T.C. McGuire and J. Carlson. 1983. Experimental infection of sheep by caprine arthritis-encephalitis virus and goats by progressive pneumonia virus. **Am. J. Vet. Res.** 44 (12): 2307-2311.
- Barlough, J., N. East, J.D. Rowe, K. Van Oose, E. Derock, L. Bigornia and E. Rimstad. 1994. Double-nested polymerase chain reaction for detection of caprine arthritis-encephalitis virus proviral DNA in blood, milk, and tissues of infected goats. **J. Virol. Meth.** 50: 101-113.
- Brinkhof, J. and C. van Maanen. 2007. Evaluation of five enzyme-linked immunosorbent assays and an agar gel immunodiffusion test for detection of antibodies to small ruminant lentiviruses. **Clin. & Vac. Imm.** 14 (9): 1210-1214.

- Cheevers, W.P., D.P. Knowles and L.K. Norton. 1991. Neutralization-resistant antigenic variants of caprine arthritis-encephalitis lentivirus associated with progressive arthritis. **J. Infect. Dis.** 164: 679-685.
- Cheevers, W.P., D.P. Knowles, T.C. McGuire, D.R. Cunningham, D.S. Adams and J.R. Gorham. 1988. Chronis disease in goats orally infected with two isolates of the caprine arthritis-encephalitis lentivirus. **Lab. Invest.** 58 (5): 510-517.
- Chung, Y.S. and B.M. O'Sullivan. 1982. Isolation of caprine-arthritis virus and detection of agar-gel immunodiffusion antibodies in goats. **Aust. Vet. J.** 58: 37-38.
- Clavijo, A. and J. Thorsen. 1996a. Application of polymerase chain reaction for the diagnosis of caprine arthritis-encephalitis. **Small Rumin. Res.** 22: 69-77.
- Clavijo, A. and J. Thorsen. 1996b. Application of polymerase chain reaction for the diagnosis of caprine arthritis-encephalitis. **Small Rumin. Res.** 22: 69-77. Cited R.C. Cuutlip, H.D. Lehmkuhl, K.A. Brogden and M.J. Schmerr. 1991. Seroprevalence of ovine progressive pneumonia virus in various domestic and wild animal species, and species susceptibility to the virus. **Am. J. Vet. Res.** 52 : 189-191.
- Cloyd, M.W. 2010. **Human Retroviruses.** Available Source:
<http://www.utmb.edu/gsb/microbook/ch062.htm>, February 19, 2010.
- Clements, J.E., O. Narayan and L.C. Cork. 1980. Biochemical characterization of the virus causing leukoencephalitis and arthritis in goats. **J. Gen. Virol.** 50: 423-427.
- Coackley, W. and V.W. Smith. 1984. Preparation and evaluation of antigens used in serological tests for caprine syncytial retrovirus antibody in sheep and goat sera. **Vet. Microbiol.** 9: 581-586.

- Coackley, W., V.W. Smith, D. Maker and J. Dickson. 1981. Isolation of caprine syncytial retroviruses. **Aust. Vet. J.** 57: 480-481.
- Contreras, A., J.C. Corrales, A. Sanchez, J.J. Aduriz, L. Gonzalez and J. Marco. 1998. Caprine arthritis-encephalitis in an indigenous Spanish breed of dairy goat. **Vet. Rec.** 142: 140-142.
- Cork, L.C. 1976. Differential diagnosis of viral leukoencephalomyelitis of goats. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 169 (12): 1303-1306.
- Cork, L.C., W.J. Hadlow, T.B. Crawford, J.R. Gorham and R.C. Piper. 1974. Infectious leukoencephalomyelitis of young goats. **J. Infect. Dis.** 129 (2): 134-141.
- Cork, L.C. and O. Narayan. 1980. The pathogenesis of viral leukoencephalomyelitis-arthritis of goats: I. Persistent viral infection with progressive pathologic changes. **Lab. Invest.** 42 (6): 596-602.
- Crawford, T.B. and D.S. Adams. 1981. Caprine arthritis-encephalitis: Clinical features and presence of antibody in selected goat populations. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 178 (7): 713-719.
- Crawford, T.B., D.S. Adams, W.P. Cheevers and L.C. Cork. 1980a. Chronic arthritis in goats caused by a retrovirus. **Science** 207: 997-999.
- Crawford, T.B., D.S. Adams, R.D. Sande, J.R. Gorham and J.B. Henson. 1980b. The connective tissue component of the caprine arthritis-encephalitis syndrome. **Am. J. Pathol.** 100 (2): 443-454.
- Cutlip, R.C., H.D. Lehmkuhl, J.M. Sacks and A.L. Weaver. 1992. Prevalence of antibody to caprine arthritis-encephalitis virus in goats in the United States. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 200 (6): 802-805.

- Dahlberg J.E., J.M. Gaskin and K. Perk. 1981. Morphological and immunological comparison of caprine arthritis encephalitis and ovine progressive pneumonia viruses. **J. Virol.** 39 (3): 914-919.
- Dawson, M., M. Jeffrey, D. Chasey, C. Venables and J.M. Sharp. 1983. Isolation of a syncytium-forming virus from a goat with polyarthritis. **Vet. Rec.** 112: 319-321.
- de Andres, D., D. Klein, N.J. Watt, E. Berriatua, S. Torsteinsdottir, B.A. Blacklaws and G.D. Harkiss. 2005. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. **Vet. Microbiol.** 107: 49-62.
- Donovan, R.M. and F.J. Fuller. 2004. Retroviridae, pp. 409-426. *In* D.C. Hirsh, N.J. MacLachlan and R.L. Walker, eds. **Veterinary microbiology**. Blackwell Publishing, Iowa.
- Douvas, A. and G. Ehresmann. 1998. **Method of diagnosing caprine arthritis-encephalitis virus infection**. United States of America Patent US005770357A.
- East, N.E., J.D. Rowe, B.R. Madewell and K. Floyd. 1987. Serologic prevalence of caprine arthritis-encephalitis virus in California goat dairies. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 190 (2): 182-186.
- Ellis, T.M. 1990. Blood leukocyte infection rates in caprine arthritis-encephalitis virus-infected goats. **Aust. Vet. J.** 67 (8): 302-303.
- Ellis, T.M. 1988. Control of caprine arthritis-encephalitis in goats. **J. Agric. West. Aust.** 29: 91-95.
- Ellis, T.M., H. Carman, W.F. Robinson and G.E. Wilcox. 1986. The effect of colostrum-derived antibody on neo-natal transmission of caprine arthritis-encephalitis virus infection. **Aust. Vet. J.** 63 (8): 242-245.

- Ellis, T., W. Robinson and G. Wilcox. 1983a. Characterisation, experimental infection and serological response to caprine retrovirus. **Aust. Vet. J.** 60 (11): 321-326.
- Ellis, T., W. Robinson and G. Wilcox. 1983b. Effect of colostrum deprivation of goat kids on the natural transmission of caprine retrovirus infection. **Aust. Vet. J.** 60 (11): 326-329.
- Ellis, T.M., W.F. Robinson and G.E. Wilcox. 1988. The pathology and aetiology of lung lesions in goats infected with caprine arthritis-encephalitis virus. **Aust. Vet. J.** 65 (3): 69-73.
- Ellis, T.M., G.E. Wilcox and W.F. Robinson. 1987. Antigenic variation of caprine arthritis-encephalitis virus during persistent infection of goats. **J. Gen. Virol.** 68: 3145-3152.
- Ellis, T.M., G.E. Wilcox and W.F. Robinson. 1985. Characteristics of cell fusion induced by a caprine retrovirus. **Arch. Virol.** 86: 263-273.
- Fernandez, A., J.J. Ramos, A. Loste, L.M. Ferrer, L. Figueras, M.T. Verde and M.C. Marca. 2006. Influence of colostrum treated by heat on immunity function in goat kids. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.** 29: 353-364.
- Fieni, F., J. Rowe, K. Van Hoosear, C. Burucoa, S. Oppenheim, G. Anderson, J. Murray and R. BonDurant. 2003. Presence of caprine arthritis-encephalitis virus (CAEV) proviral DNA in genital tract tissues of super ovulated dairy goat does. **Theriogenology** 59: 1515-1523.
- Freshney, R.I. 2000. Introduction to basic principles, pp. 1-18. *In* J.R.W. Masters, ed. **Animal cell culture.** Oxford University Press, New York.
- Garcia, M., M. Galhardo, W.P. Araujo, J.L. D'Angelino, P.S. Bastos and A.J. Rossini. 1992. Caprine arthritis-encephalitis (CAE). occurrence of positive sera in goats raised in Brazil. **Trop. Anim. Hlth Prod.** 24: 164.

- Gazit, A., A. Yaniv, M. Dvir, K. Perk, S.G. Irving and J.E. Dahlberg. 1983. The caprine arthritis-encephalitis virus is a distinct virus within the lentivirus group. **Virology** 124: 192-195.
- Gjerset, B., C.M. Jonassen and E. Rimstad. 2007. Natural transmission and comparative analysis of small ruminant lentiviruses in the Norwegian sheep and goat populations. **Virus Res.** 125: 153-161.
- Gonzalez, L., J.L. Gelabert, J.C. Marco and C. Saez de Okariz. 1987. Caprine arthritis-encephalitis in the Basque country, Spain. **Vet. Rec.** 120: 102-109.
- Grant, G.H., P.M. Johnachan, D. Oliviera and S. Pitterson. 1988. Seroprevalence of caprine arthritis encephalitis in the Jamaican goat population. **Trop. Anim. Hlth. Prod.** 20: 181-182.
- Greenwood, P.L. 1995a. Effects of caprine arthritis-encephalitis virus on productivity and health of dairy goats in New South Wales, Australia. **Prev. Vet. Med.** 22: 71-87.
- Greenwood, P.L. 1995b. Effects of caprine arthritis-encephalitis virus on productivity and health of dairy goats in New South Wales, Australia. **Prev. Vet. Med.** 22: 71-87. *Cited O.A. Ali.* 1987. Caprine arthritis encephalitis related changes in the uterus of a goat. **Vet. Rec.** 121 : 131-132.
- Greenwood, P.L. 1995c. Effects of caprine arthritis-encephalitis virus on productivity and health of dairy goats in New South Wales, Australia. **Prev. Vet. Med.** 22: 71-87. *Cited M.C. Zink and O. Narayan.* 1989. Lentivirus-induced interferon inhibits maturation and proliferation of monocytes and restricts replication of caprine arthritis-encephalitis virus. **J. Virol.** 63 : 2578-2584.

- Greenwood, P.L., R.N. North and P.D. Kirkland. 1995. Prevalence, spread and control of caprine arthritis-encephalitis virus in dairy goat herds in New South Wales. **Aust. Vet. J.** 72 (9): 341-345.
- Grewal, A.S. 1986. Comparison of two gel diffusion precipitin tests in the serodiagnosis of caprine arthritis encephalitis virus infection in goats. **Aust. Vet. J.** 63 (10): 342-342.
- Grewal, A.S., P.E. Greenwood, R.W. Burton, J.E. Smith, E.M. Batty and R. North. 1986. Caprine retrovirus infection in New South Wales: Virus isolations, clinical and histopathological findings and prevalence of antibody. **Aust. Vet. J.** 63 (8): 245-248.
- Gufler, H., J. Gasteiner, D. Lombardo, E. Stifter, R. Krassnig and Baumgartner. 2007. Serological study of small ruminant lentivirus in goats in Italy. **Small Rumin. Res.** 73: 169-173.
- Guiguen, F., L. Mselli-Lakhal, J. Durand, J. Du, C. Favier, C. Fornazero, D. Grezel, S. Balleydier, E. Hausmann and Y. Chebloune. 2000. Experimental infection of Mouflon-domestic sheep hybrids with caprine arthritis-encephalitis virus. **Am. J. Vet. Res.** 61 (4): 456-461.
- Haase, A.T. 1986a. Pathogenesis of lentivirus infections. **Nature** 322: 130-136.
- Haase, A.T. 1986b. Pathogenesis of lentivirus infections. **Nature** 322: 130-136. Cited F.M. Torti, B. Dieckmann, B. Beutler, A. Cerami and G.M. Ringold. 1985. A Macrophage factor inhibits adipocyte gene expression: an in vitro model of cachexia. **Science** 229 : 867-869.
- Hanson, J., E. Hydbring and K. Olsson. 1996. A long term study of goats naturally infected with caprine arthritis-encephalitis virus. **Acta. Vet. Scand.** 37 (1): 31-39.

- Hay, R.J., M. Miranda-Cleland, S. Durkin and Y.A. Reid. 2000. Cell line preservation and authentication, pp. 69-103. *In* J.R.W. Masters, ed. **Animal cell culture**. Oxford University Press, New York.
- Herrmann, L.M., W.P. Cheevers, T.C. McGuire, D.S. Adams, M.M. Hutton, W.G. Gavin and D.P. Knowles. 2003. Competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus: Diagnostic tool for successful eradication. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.** 10 (2): 267-271.
- Klevjer-Anderson, P. and W.P. Cheevers. 1981. Characterization of the infection of caprine synovial membrane cell by the retrovirus caprine arthritis-encephalitis virus. **Virology** 110: 113-119.
- Knowles, D., W. Cheevers, T. McGuire, T. Stem and J. Gorham. 1990. Severity of arthritis is predicted by antibody response to gp135 in chronic infection with caprine arthritis-encephalitis virus. **J. Virol.** 64 (5): 2396-2398.
- Knowles, D.P., T.C. MaGuire and W.P. Cheevers. 1992. Caprine arthritis encephalitis, pp. 202-205. *In* R.W. Reinhardt, ed. **Veterinary diagnostic virology: A practitioner's guide**. Mosby-Year, Inc., Missouri.
- Konishi, M., S. Tsuduku, M. Haritani, K. Murakami, T. Tsuboi, C. Kobayashi, K. Yoshikawa, K.M. Kimura and H. Sentsui. 2004. An epidemic of caprine arthritis encephalitis in Japan: Isolation of the virus. **J. Vet. Med. Sci.** 66 (8): 911-917.
- Lamara, A., F. Fieni, L. Mselli-Lakhal, D. Tainturier and Y. Chebloune. 2001. Efficient replication of caprine arthritis-encephalitis virus in goat granulosa cells. **Virus Res.** 79: 165-172.

- Lamontagne, L., R. Roy, A. Girard and B.S. Samagh. 1983. Seroepidemiological survey of maedi-visna virus infection in sheep and goat flocks in Quebec. **Can. J. Comp. Med.** 47 (3): 309-315.
- Lerondelle, C., T. Greenland, M. Jane and J.F. Mornex. 1995. Infection of lactating goats by mammary instillation of cell-borne caprine arthritis-encephalitis virus. **J. Dairy Sci.** 78: 850-855.
- Louie, K.A., J.M. Dadgari, B.M. DeBoer, H. Weisbuch, P.M. Snow, W.P. Cheevers, A. Douvas and M. McMillan. 2003. Caprine arthritis-encephalitis virus-infected goats can generate human immunodeficiency virus-gp120 cross-reactive antibodies. **Virology** 315: 217-223.
- MacKenzie, R.W., R.E. Oliver, J.P. Rooney and H. Kagei. 1987. A successful attempt to raise goat kids free of infection with caprine-arthritis encephalitis virus in an endemically infected goat herd. **N.Z. Vet. J.** 35: 184-186.
- Mdurvwa, E.G., P.O. Ogunbiyi, H.S. Gakou and P.G. Reddy. 1994. Pathogenic mechanisms of caprine arthritis-encephalitis virus. **Vet. Res. Commun.** 18: 483-490.
- Morin, T., F. Guiguen, B.A. Bouzar, S. Villet, T. Greenland, D. Grezel, F. Gounel, K. Gallay, C. Garnier, J. Durand, T. Alogninouwa, L. Mselli-Lakhal, and J.F. Mornex. 2003. Clearance of a productive lentivirus infection in calves experimentally inoculated with caprine arthritis-encephalitis virus. **J. Virol.** 77 (11): 6430-6437.
- Motha, M.X.J. and J.C. Ralston. 1994. Evaluation of ELISA for detection of antibodies to CAEV in milk. **Vet. Microbiol.** 38: 359-367.

- Mselli-Lakhal, L., C. Favier, K. Leung, F. Guiguen, D. Grezel, P. Miossec, J.F. Mornex, O. Narayan, G. Querat and Y. Chebloune. 2000. Lack of functional receptors is the only barrier that prevents caprine arthritis-encephalitis virus from infecting human cells. **J. Virol.** 74 (18): 8343-8348.
- Narayan, O. and J.E. Clements. 1989. Biology and pathogenesis of lentiviruses. **J. Gen. Virol.** 70: 1617-1639.
- Narayan, O., J.E. Clements, J.D. Strandberg, L.C. Cork and D.E. Griffin. 1980. Biological characterization of the virus causing leukoencephalitis and arthritis in goats. **J. Gen. Virol.** 50: 69-79.
- Narayan, O. and L.C. Cork. 1985. Lentiviral diseases of sheep and goats: chronic pneumonia leukoencephalomyelitis and arthritis. **Rev. Infect. Dis.** 7 : 89-98.
- Narayan, O. and L.C. Cork. 1990. Caprine arthritis-encephalitis virus, pp. 441-452. In Z. Dinter and B. Morein, eds. **Virus infections of ruminants.** Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam.
- Narayan, O., S. Kennedy-Stoskopf, D. Sheffer, D.E. Griffin and J.E. Clements. 1983. Activation of caprine arthritis-encephalitis virus expression during maturation of monocytes to macrophages. **Infect. Immun.** 41 (1): 67-73.
- Narayan, O., D. Sheffer, D.E. Griffin, J. Clements and J. Hess. 1984. Lack of neutralizing antibodies to caprine arthritis-encephalitis lentivirus in persistently infected goats can be overcome by immunization with inactivated Mycobacterium tuberculosis. **J. Virol.** 49 (2): 349-355.
- Narayan, O., J.S. Wolinsky, J.E. Clements, J.D. Strandberg, D.E. Griffin and L.C. Cork. 1982. Slow virus replication: the role of macrophages in the persistence and expression of visna viruses of sheep and goats. **J. Gen. Virol.** 59: 345-356.

- Nord, K. and T. Adnøy. 1997. Effects of infection by caprine arthritis-encephalitis virus on milk production of goats. **J. Dairy Sci.** 80: 2391-2397.
- Nord, K., T. Loken and A. Orten. 1998a. Control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in three Norwegian goat herds. **Small Rumin. Res.** 28: 109-114.
- Nord, K., E. Rimstad, A.K. Storset and T. Loken. 1998b. Prevalence of antibodies against caprine arthritis-encephalitis virus in goat herds in Norway. **Small Rumin. Res.** 28: 115-121.
- OIE. 2009. **OIE World Animal Health Information Database**. Available Source: <http://www.oie.int/wahis/public.php>, October 15, 2009.
- Peterson, K., J. Brinkhof, D.J. Houwers, B. Colenbrander and B.M. Gadella. 2008. Presence of pro-lentiviral DNA in male sexual organs and ejaculates of small ruminants. **Theriogenology** 69: 433-442.
- Plaza, M., A. Sanchez, J.C. Corrales, C. De la Fe and A. Contreras. 2009. Caprine arthritis encephalitis virus diagnosed by ELISA in lactating goats using milk samples. **Small Rumin. Res.** 81: 189-192.
- Pugh, D.G. 2002. Normal values and conversions, pp. 451-455. *In* D.G. Pugh, ed. **Sheep and goat medicine**. W.B. Saunders company, Philadelphia.
- Ravazzolo, A.P., C. Nenci, H.R. Vogt, A. Waldvogel, G. Obexer-Ruff, E. Peterhans and G. Bertoni. 2006. Viral load, organ distribution, histopathological lesions, and cytokine mRNA expression in goats infected with a molecular clone of the caprine arthritis encephalitis virus. **Virology** 350 (1): 116-127.

- Reilly, L.K., A.N. Baird and D.G. Pugh. 2002. Diseases of the musculoskeletal system, pp. 223-254. In D.G. Pugh, ed. **Sheep and goat medicine**. W.B. Saunders company, Philadelphia.
- Reina, R., E. Berriatua, L. Lujan, R. Juste, A. Sanchez, D. de Andres and B. Amorena. 2009a. Prevention strategies against small ruminant lentiviruses: An update. **Vet. J.** 182: 31-37.
- Reina, R., E. Berriatua, L. Lujan, R. Juste, A. Sanchez, D. de Andres and B. Amorena. 2009b. Prevention strategies against small ruminant lentiviruses: An update. **Vet. J.** 182: 31-37.
- Cited B. Extramiana, L. Gonzalez, N. Cortabarría, M. Garcia and R. Juste. 2002. Evaluation of a PCR technique for the detection of maedi visna virus proviral DNA in blood, milk and tissue samples of naturally infected sheep. **Small Rumin. Res.** 44 : 109-117.
- Rimstad, E., N. East, E. DeRock, J. Higgins and N.C. Pedersen. 1994. Detection of antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus using recombinant gag proteins. **Arch. Virol.** 134: 345-356.
- Rimstad, E., N.E. East, M. Torten, J. Higgins, E. DeRock and N.C. Pedersen. 1993. Delayed seroconversion following naturally acquired caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats. **Am. J. Vet. Res.** 54 (11): 1858-1862.
- Robinson, W.F. and T.M. Ellis. 1986. Caprine arthritis-encephalitis virus infection: from recognition to eradication. **Aust. Vet. J.** 63 (8): 237-241.
- Rolland, M., C. Chauvineau, S. Valas, R.Z. Mamoun and G. Perrin. 2004. Establishment and characterization of a goat synovial membrane cell line susceptible to small ruminant lentivirus infection. **J. Virol. Meth.** 118: 123-130.
- Rosengren, S., D.L. Boyle and G.S. Firestein. 2007. Acquisition, Culture, and Phenotyping of Synovial Fibroblasts. **Methods Mol. Med.** (135): 365-375.

- Rowe, J.D. and N.E. East. 1997. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.** 13: 35-53.
- Rowe, J.D., N.E. East, C.E. Franti, M.C. Thurmond, N.C. Pedersen and G.H. Theilen. 1992a. Risk factors associated with the incidence of seroconversion to caprine arthritis-encephalitis virus in goats on California dairies. **Am. J. Vet. Res.** 53 (12): 2396-2403.
- Rowe, J.D., N.E. East, M.C. Thurmond and C.E. Franti. 1991. Risk factors associated with caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on California dairies. **Am. J. Vet. Res.** 52 (3): 510-514.
- Rowe, J.D., N.E. East, M.C. Thurmond, C.E. Franti and N.C. Pedersen. 1992b. Cohort study of natural transmission and two methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection in goats on a California dairy. **Am. J. Vet. Res.** 53 (12): 2386-2395.
- Ryan, D.P., P.L. Greenwood and P.J. Nicholls. 1993. Effect of caprine arthritis-encephalitis virus infection on milk cell count and N-Acetyl-beta-glucosaminidase activity in dairy goats. **J. Dairy Res.** 60: 299-306.
- Shah, C., J.B. Huder, J. Boni, M. Schonmann, J. Muhlherr, H. Lutz and J. Schupbach. 2004. Direct evidence for natural transmission of small-ruminant lentiviruses of subtype A4 from goats to sheep and vice versa. **J. Virol.** 78 (14): 7518-7522.
- Shuljak, B.F. 2007. Lentivirus infections of ungulates. III. Pathogenesis & symptoms. **Bulg. J. Vet. Med.** 10 (1): 1-8.
- Singh, V.P., N.C. Srivastava, M. Kumar, M.J. Sunder and J.P. Varshney. 2004. Isolation and characterization of an Indian strain of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* type LC from a case of caprine arthritis. **Comp. Immunol. Microbiol. and Infect. Dis.** 27 (4): 273-284.

- Smith, M.C. and R. Cutlip. 1988a. Effects of infection with caprine arthritis-encephalitis virus on milk production in goats. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 193 (1): 63-67.
- Smith, M.C. and R. Cutlip. 1988b. Effects of infection with caprine arthritis-encephalitis virus on milk production in goats. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 193 (1): 63-67. *Cited* D.S. Adams. 1983. Infectious causes of lameness proximal to the foot. **Vet. Clin. North Am. [Large Anim. Pract.]** 5 : 571-590.
- Smith, V.W., J. Dickson, W. Coackley and D. Maker. 1981. Caprine syncytial retrovirus. **Aust. Vet. J.** 57: 481-483.
- Smith, M.C. and D.M. Sherman. 1994. **Goat medicine.** Lea & Febiger, Philadelphia.
- Surman, P.G., E. Daniels and B.R. Dixon. 1987. Caprine arthritis-encephalitis virus infection of goats in South Australia. **Aust. Vet. J.** 64 (9): 266-271.
- Swiss Institute of Bioinformatics. 2010. **Lentivirus.** ViralZone. Available Source: <http://www.expasy.org/viralzone>, February 19, 2010.
- Tobe, M., N. Ogura, Y. Abiko and H. Nagura. 2002. Interleukin-1b stimulates interleukin-8 production and gene expression in synovial cells from human temporomandibular joint. **J. Oral Maxillofac. Surg.** 60: 741-747.
- Torres-Acosta, J.F.J., E.J. Gutierrez-Ruiz, V. Butler, A. Schmidt, J. Evans, J. Babington, K. Bearman, T. Fordham, T. Brownlie, S. Schroer, E. Camara-G and J. Lightsey. 2003. Serological survey of caprine arthritis-encephalitis virus in 83 goat herds of Yucatan, Mexico. **Small Rumin. Res.** 49: 207-211.
- Travassos, C.E., C. Benoit, S. Valas, A.G. da Silva and G. Perrin. 1999. Caprine arthritis-encephalitis virus in semen of naturally infected bucks. **Small Rumin. Res.** 32: 101-106.

Upragarin, N. 2005. **In vitro studies on the pathogenesis of AA amyloid arthropathy in chicken.** Ph.D. thesis, Utrecht university.

Woodard, J.C., J.M. Gaskin, P.W. Poulos, R.J. MacKay and M.J. Burridge. 1982. Caprine arthritis-encephalitis: Clinicopathologic study. **Am. J. Vet. Res** 43 (12): 2085-2096.

Zink, M.C., O. Narayan, P.G.E. Kennedy and J.E. Clements. 1987. Pathogenesis of visna/maedi and caprine arthritis-encephalitis: New leads on the mechanism of restricted virus replication and persistent inflammation. **Vet. Immunol. Immunopathol.** 15: 167-180.

Zink, M.C., J.A. Yager and J.D. Myers. 1990. Pathogenesis of caprine arthritis encephalitis virus: Cellular localization of viral transcripts in tissues of infected goats. **Am. J. Pathol.** 136 (4): 843-854.





ตารางผนวกที่ ก1 ข้อมูลจำนวนแพะและเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะในพื้นที่จังหวัดที่ทำการศึกษา

Province	Meat goat			Dairy goat		
	Male	Female	Farm	Male	Female	Farm
Bangkok	1,169	1,647	166	762	3,139	141
Nonthaburi	128	434	46	161	471	32
Pathumthani	346	490	29	64	242	8
Ayuthaya	908	2,254	129	107	610	35
Rachaburi	2,169	5,695	277	28	308	12
Kanchanaburi	6,655	19,607	436	1,333	3,815	22
Nakornpathom	2,276	6,767	148	293	730	11

ที่มา: กรมปศุสัตว์ (2552)



ภาคผนวก ข
จำนวนฟาร์มและจำนวนแพะที่ใช้ในการศึกษาจำแนกตามจังหวัด

ตารางผนวกที่ ข1 จำนวนฟาร์มและจำนวนแพะที่ใช้ในการศึกษาจำแนกตามจังหวัด

Province	Farm	Serum sample
Bangkok	9	84
Nonthaburi	33	242
Pathumthani	3	30
Ayuthaya	9	90
Nakornpathom	32	313
Rachaburi	6	55
Kanchanaburi	58	519
Total	150	1,333



ขั้นตอนการทดสอบระดับภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อไวรัสข้ออักเสบและสมองอักเสบในแพะด้วยชุดทดสอบ ELISA (IDEXX Laboratories)

The CHEKIT-CAEV/MVV ของ IDEXX Laboratories เป็นชุดทดสอบที่ใช้สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ CAEV และ MVV ในตัวอย่างซีรัม พลาสมาและน้ำนมของแพะและแกะ หลักการของชุดทดสอบนี้คือ แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CAEV หรือ MVV ในตัวอย่างจะจับกับแอนติเจนที่ได้จาก MVV ที่เคลือบไว้ในหลุม และเกิดเป็น antigen/antibody complex บนพื้นผิวของหลุม สารที่ไม่ได้มีการรวมตัวกับสารอื่นจะถูกล้างออก จากนั้นเติม peroxidase-labeled anti-ruminant IgG conjugate ซึ่งจะไปจับกับ antigen/antibody complex ล้าง conjugate ที่ไม่ได้จับกับ antigen/antibody complex ออก เมื่อเติม TMB-containing substrate ลงไปก็จะทำปฏิกิริยากับ conjugate และเกิดสีขึ้น ระดับของสีที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ CAEV และ MVV ที่อยู่ในตัวอย่าง การแปลผลจะเปรียบเทียบค่าความเข้มของแสง (optical density; OD) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ในหลุมที่มีตัวอย่างกับหลุมที่มีตัวควบคุมบวกและตัวควบคุมลบ ซึ่งขั้นตอนสำหรับการตรวจตัวอย่างซีรัมมีดังนี้

1. ใส่ CHEKIT-Wash Solution ลงในหลุม 90 ไมโครลิตร
2. ใส่ตัวอย่างซีรัมและตัวควบคุมลงในหลุม 10 ไมโครลิตร ซึ่งจะได้อัตราส่วนที่เจือจางในอัตราส่วน 1:10
3. ผสมสารที่อยู่ภายในหลุมให้เข้ากัน
4. ปิด plate และเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที ในตู้ความชื้น
5. ล้างแต่ละหลุมด้วย CHEKIT-Wash solution ประมาณ 300 ไมโครลิตร แล้วเททิ้ง ทำซ้ำ 3 ครั้ง
6. ใส่ CHEKIT-CAEV/MVV-Anti-Ruminant-IgG conjugate ลงในแต่ละหลุม 100 ไมโครลิตร
7. ปิด plate และเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที ในตู้ความชื้น

8. ล้างแต่ละหลุมด้วย CHEKIT-Wash solution ประมาณ 300 ไมโครลิตร แล้วเททิ้ง ทำซ้ำ 3 ครั้ง

9. ใส่ CHEKIT-TMB Substrate 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม

10. ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที

11. หยุดปฏิกิริยาการเกิดสีโดยเติม CHEKIT-Stop Solution TMB ลงในหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร

12. อ่านผลด้วยเครื่อง photometer ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ภายใน 2 ชั่วโมง หลังจากเติม stop solution

การแปลผลพิจารณาจากค่า serum to positive ratio (S/P ratio) ซึ่งมีสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{S/P ratio (\%)} = \frac{\text{OD}_{\text{sample}} - \text{OD}_{\text{neg}}}{\text{OD}_{\text{pos}} - \text{OD}_{\text{neg}}} \times 100\%$$

หากค่า S/P ratio ที่ได้น้อยกว่า 30% ถือว่าตัวอย่างนั้นให้ผลลบต่อการทดสอบ

หากค่า S/P ratio อยู่ในช่วงเท่ากับ 30% ถึงน้อยกว่า 40% ถือว่าตัวอย่างนั้นให้ผลสงสัยต่อการทดสอบ

หากค่า S/P ratio มากกว่าหรือเท่ากับ 40% ถือว่าตัวอย่างนั้นให้ผลบวกต่อการทดสอบ



ภาคผนวก ง
สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์

สารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์

1. ส่วนประกอบ 0.25% collagenase enzyme solution

1.1 เตรียม 1% stock solution โดยละลาย Collagenase type I powder (Gibco 17102-013) 1 g (150 unit/mg) ใน 100 ml MEM (Minimum Essential Medium) และ 2 ml FCS เก็บสารละลายที่เตรียมได้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.2 เตรียม working dilution 0.25% ใน MEM 0.5% FCS โดยเจือจาง stock solution 25 ml ใน MEM 75 ml

2. ส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเซลล์

2.1 RPMI 1640 83 ml with glutamine without sodium bicarbonate

2.2 FCS 10 ml

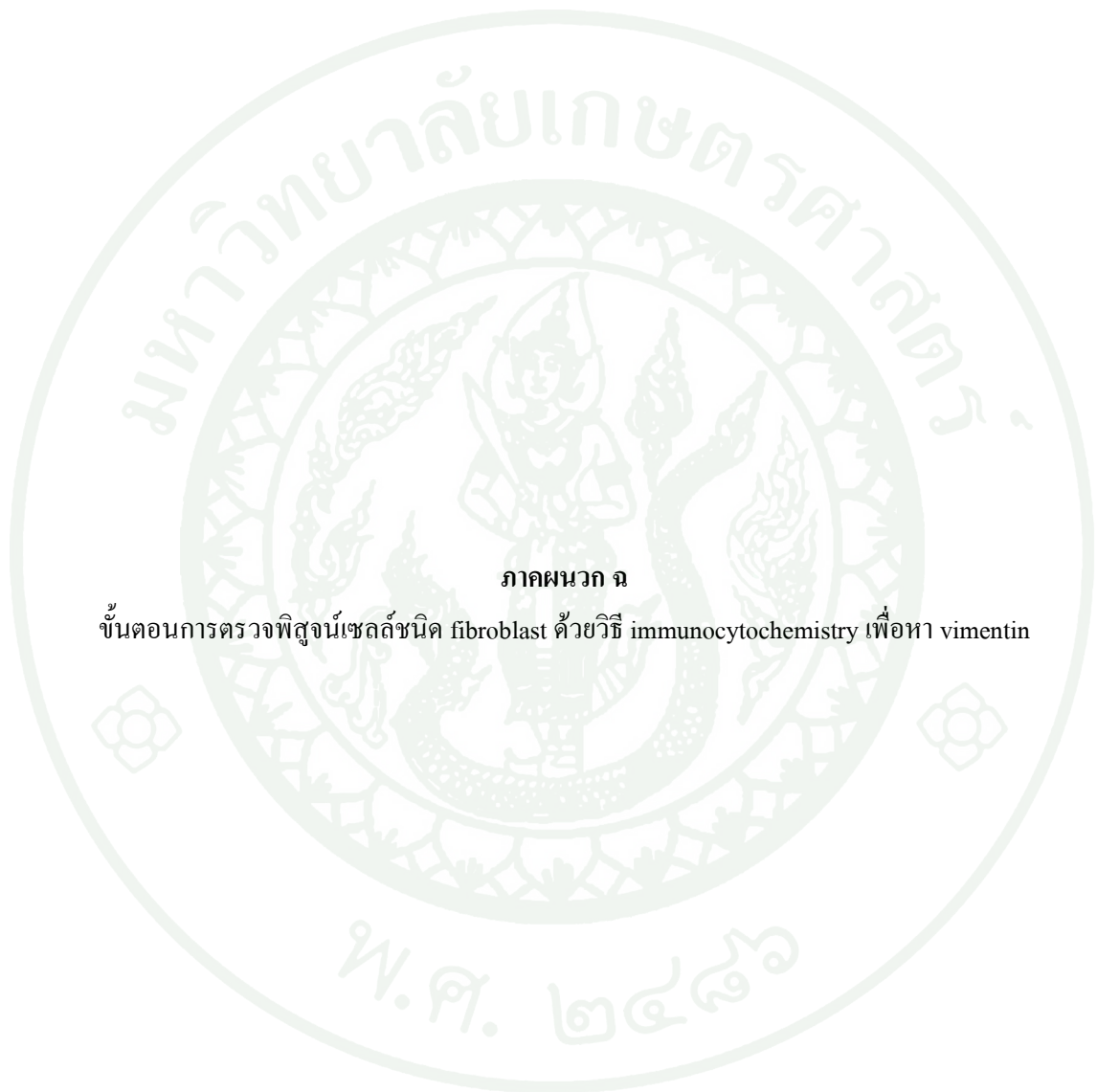
2.3 100 mM Sodium pyruvate 2 ml

2.4 1 mM 2-mercaptoethanol 5.28 ml



ขั้นตอนการถ่ายเลี้ยงเซลล์

1. ดูอาหารเลี้ยงเซลล์ที่มีอยู่ในภาชนะทิ้ง
2. ใส่ PBS 5 มิลลิลิตร ลงในภาชนะ แกว่งล้างบริเวณด้านล่างของภาชนะ จากนั้นดูดทิ้งไป ทำการล้างซ้ำอีกรอบ
3. ใส่ trypsin 2 มิลลิลิตร ลงในภาชนะ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 5 นาที เพื่อให้เซลล์หลุดจากพื้นผิวภาชนะ หลังจากนั้นนำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อยืนยันว่าเซลล์หลุดจากพื้นผิวภาชนะแล้ว
4. ใส่ PBS 2 มิลลิลิตร ลงในภาชนะเพื่อหยุดการทำปฏิกิริยาของ trypsin
5. ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ 2 มิลลิลิตร โดยพ่นใส่บริเวณพื้นผิวภาชนะเพื่อชะล้างเซลล์
6. ดูสารทั้งหมดจาก flask ใส่ลงในหลอดทดลอง นำไปปั่น 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
7. เตรียมภาชนะสำหรับเพาะเลี้ยงเซลล์ใหม่ โดยใส่อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ลงในภาชนะ ประมาณ 80% ของปริมาตรทั้งหมดในการเพาะเลี้ยงในแต่ละภาชนะ
8. ดูส่วนใสที่ได้จากการปั่นทิ้ง ใส่อาหารเลี้ยงเซลล์ลงในหลอดที่มีตะกอนของเซลล์อยู่ ประมาณ 20% ของปริมาตรทั้งหมดในการเพาะเลี้ยงรวมทุกภาชนะ
9. ใช้ปิเปตดูดและพ่นใส่ภายในหลอดเบาๆ เพื่อให้เซลล์กระจายตัวอย่างทั่วถึง จากนั้นจึง ดูดตามปริมาตรที่ต้องการใส่ลงในภาชนะใหม่



ภาคผนวก จ

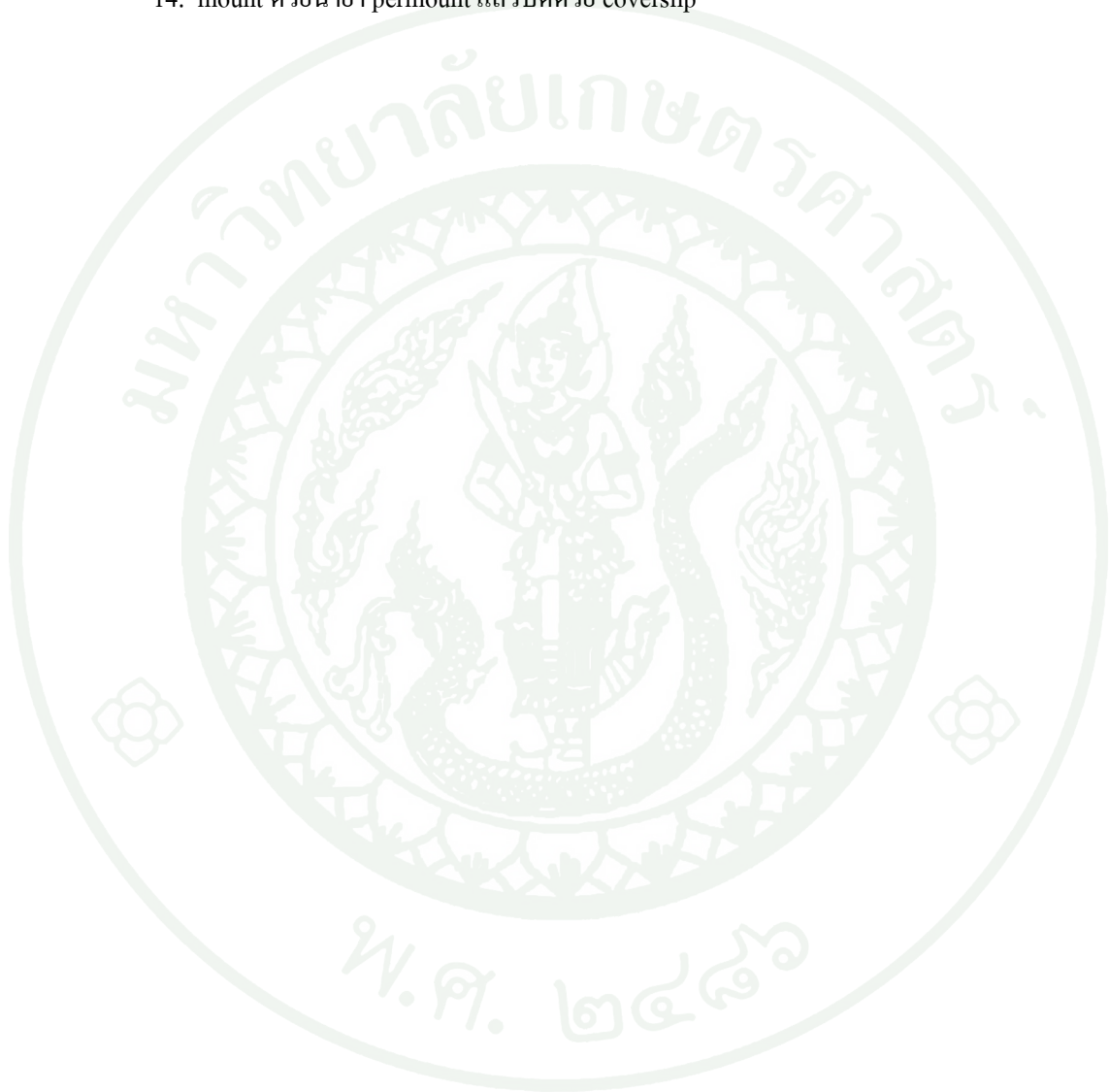
ขั้นตอนการตรวจพิสูจน์เซลล์ชนิด fibroblast ด้วยวิธี immunocytochemistry เพื่อหา vimentin

ขั้นตอนการตรวจพิสูจน์เซลล์ชนิด fibroblast ด้วยวิธี immunocytochemistry เพื่อหา vimentin

1. ล้าง slide ที่อบแล้วด้วย tris pH 7.6 เป็นเวลา 2 นาที
2. endogenous peroxidase blocking ด้วย 3% H_2O_2 ในน้ำกลั่น 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำประปาไหล หลังจากนั้นลงแช่น้ำกลั่น
3. antigen retrieval ด้วย citrate buffer pH 6 นำเข้าอบในเตาไมโครเวฟ high power 10 นาที และ 30% power อีก 10 นาที แล้วนำมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำประปาไหล
4. ล้างด้วย tris 2 นาที
5. non-specific protein blocking ด้วย 3% normal horse serum 20 นาที
6. ใส่ primary antibody ที่เจือจางเป็น 1:100, 300 และ 500 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง
7. ล้างด้วย tris 3 นาที 2 ครั้ง
8. visualisation system ด้วย EnVision system 30 นาที
9. ล้างด้วย tris 3 นาที 2 ครั้ง
10. DAB detection ด้วย DAB liquid 15 นาที
11. หยดปฏิกิริยาด้วย tris 3 นาที 2 ครั้ง
12. counterstain ด้วย Mayer' s Hematoxylin 7 วินาที แล้วแช่ในน้ำกลั่น 3 นาที

13. dehydrate ด้วย 95% alcohol 1 นาที 3 ครั้ง absolute alcohol 1 นาที 3 ครั้ง xylene 2 นาที 3 ครั้ง

14. mount ด้วยน้ำยา permount แล้วปิดด้วย coverslip



ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวนิอร รัตนภพ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 15 มกราคม 2525
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับหนึ่ง) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	อาจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์ใหญ่และสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-